Giessen 1973

D. Hofman.

Aus dem Zentrum für Chirurgie
Abteilung für Anaesthesiologie
der Justus Liebig-Universität Gießen
und aus dem Zentrum für Klinische Chemie,
Immunologie und Humangenetik
der Justus Liebig-Universität Gießen

TIEREXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ZUR FRAGE DER LEBERSCHÄDIGUNG NACH METHOXYFLURAN-NARKOSE UND HYPOXIE BZW. HYPERKAPNIE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
des Bereiches Humanmedizin
der Justus Liebig-Universität Gießen

Vorgelegt von
Dieter Hofmann
aus Bad Nauheim

Gießen 1973

Dekan:	Prof. Dr. Hj. Staudinger
Referent:	Prof. Dr. H. L'Allemand
Correferent:	Prof. Dr. G. Szasz
Kommissions-gutachter:	Doz. Dr. F.W. Schmahl

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I.	Einleitung	7
II.	Methodik	9
1.	Versuchstiere	9
2.	Versuchsanordnung und -ablauf	9
3.	Versuchsgruppen	13
4.	Blutentnahme und Töten der Tiere	14
	A. Blutentnahme während der Narkose	14
	B. Gewinnung des Plasmas zur Enzymbestimmung und Entnahme der Lebern für Homogenat und Histologie	15
5.	Bestimmung der Enzymaktivitäten	16
	A. Prinzipien	16
	B. Geräte	16
	C. Arbeitsweise	17
6.	Weitere klinisch-chemische Untersuchungen	19
	A. Hämoglobin	19
	B. Hämatokrit	19
	C. Gesamteiweiß	19
	D. Blutzucker	19
	E. Blutgasanalyse	20
7.	Herstellen des Leberhomogenats	20
8.	Histologie	20
9.	Phototechnik	21
10.	Messung des relativen Lebergewichts	21
11.	Statistik	21

		Seite
III.	Kritik der Methodik	23
1.	Messung der Enzymaktivitäten	23
2.	Aktivitätsbestimmung der γ -GT	23
3.	Blutgasanalyse nach Astrup	24
IV.	Ergebnisse	25
1.	Sterblichkeit der Tiere	25
2.	Ergebnisse der Blutgasanalyse	28
3.	Ergebnisse der Blutzuckerbestimmung	30
4.	Ergebnisse der Enzymaktivitätsmessung	31
	A. Enzymaktivitätsmessung im Plasma	32
	B. Enzymaktivitätsmessung im Homogenat	41
5.	Relatives Lebergewicht	48
6.	Histologische Ergebnisse	50
	A. Kontrolltiere	50
	B. Hypoxiegruppe	51
	C. Penthranegruppe	52
	D. Penthrane-Hypoxiegruppe	53
	E. Hyperkapniegruppe	55
	F. Penthrane-Hyperkapniegruppe	56
V.	Diskussion	59
VI.	Zusammenfassung	68
VII.	Literaturverzeichnis	72

NOMENKLATUR:

APh	Alkalische Phosphatase
ChE	Cholinesterase
CPK	Creatin - Phospho - Kinase
GOT	Glutamat - Oxalat - Transaminase
GPT	Glutamat - Pyruvat - Transaminase
GLDH	Glutamatdehydrogenase
γ - GT	γ - Glutamyltranspeptidase
α - HBDH	α - Hydroxybutyrat - Dehydrogenase
LDH	Lactatdehydrogenase
LAP	Leucyl - Arylamidase
NAD	Nicotinamid - adenin - dinucleotid
NADP	Nicotinamid - adenin - dinucleotid - phosphat
mU/ml	Millieinheiten / Milliliter
U / g	Einheiten / Gramm

I. EINLEITUNG

Seit der Entdeckung der ersten Inhalationsnarkotika wird über deren toxische Nebenwirkungen diskutiert. Die schädliche Wirkung des Chloroforms auf parenchymatöse Organe, vor allem auf die Leber, ist seit langem bekannt. Deshalb ist Chloroform heute nicht mehr als Narkotikum im Gebrauch (Lit. 22).

Das von STUCKLING entdeckte 1,1,1 Trifluor-2-brom-chlor-äthan (Fluothane, Halothane) wurde nach seiner Einführung im Jahre 1956 das bei weitem beliebteste Inhalationsnarkotikum (Lit. 8, 12). Im selben Jahr fand J.F. ARTUSIO eine ähnlich wirkende Substanz, den 2,2 Dichlor-1,1-difluor-aethyl-methylaether, Methoxyfluran (Penthrane). Methoxyfluran wurde 1959 zum ersten Mal klinisch angewendet (Lit. 2).

Der Idealforderung, rasch anzufluten, gut steuerbar, aber wenig toxisch zu sein, entsprechen die modernen Mittel Halothan und Penthrane am ehesten. Trotzdem ist gerade beim Halothan die Diskussion um die Lebertoxizität keineswegs abgeschlossen.

Besonders interessieren heute zusätzliche Faktoren, wie z. B. Hypoxie, Hyperkapnie oder Mehrfachnarkose, die eventuell auslösend für die leberschädliche Wirkung sind. Ein Beitrag zur Klärung dieser Frage mag die Arbeit von M. CÜPPERS sein, die den Einfluß der hypoxischen und mehrfachen Halothannarkose im Tierexperiment untersucht hat (Lit. 12).

Für das im Vergleich zum Halothan gleich intensiv, aber länger wirksame Penthrane ist bekannt, daß es nephrotoxisch wirken kann (Lit. 8). Über eine hepatotoxische Wirkung liegen unterschiedliche Literaturberichte vor (Lit. 3, 21). Inwieweit Leberschäden unter hypoxischer bzw. hyperkapnischer Penthrane-Narkose nachweisbar

sind, soll in der vorliegenden Arbeit untersucht werden. Dabei haben wir uns, was die Methode betrifft, an die vorausgegangenen Untersuchungen von M. CÜPPERS angelehnt. Dadurch wird ein Vergleich beider Narkotika in Bezug auf ihre Nebenwirkungen möglich.

II. METHODIK

1. Versuchstiere

Die Untersuchungen wurden an insgesamt 317 Ratten vom Stamm BR 46 Wistar II vorgenommen. Es wurden ausschließlich weibliche Tiere verwendet, nachdem sich in Vorversuchen gezeigt hatte, daß die männlichen Tiere durch eine höhere Mortalität belastet waren. Die Tiere hatten ein Gewicht von 180 - 220 Gramm. Auf konstantes Gewicht wurde geachtet, weil die Höhe des Serum-Enzymspiegels eine Abhängigkeit zum Körpergewicht zeigt (Lit. 10).
Nach dem Antransport von der Zuchtanstalt blieben die Tiere mindestens eine Woche in ihren Käfigen, bevor sie zu Versuchen verwendet wurden.
Sie wurden bei konstanter Raumtemperatur von 24 - 26° C gehalten.
Den Tieren wurden immer ausreichend Futter (ALTROMIN Trockenfutter) und Trinkwasser gegeben.
In Voruntersuchungen wurde zum Ausschluß kranker Tiere das Gesamteiweiß im Plasma (BIURET-Methode) bestimmt.
Um Aufschluß zu erhalten, ob die Tiere genügend hydriert waren, wurden Hb (HAEMIGLOBINCYANID-Methode) und Hk (Methode nach STRUMIA) bestimmt.

2. Versuchsanordnung und -ablauf

Eine abgedichtete Wanne von 10 l Inhalt wurde mit definierten Gasgemischen durchströmt. Als Trägergase wurden Sauerstoff, Lachgas und Kohlendioxyd verwendet, als Narkotikum Methoxyfluran (PENTHRANE, FIRMA ABBOTT). Um unter möglichst standardisierten Bedingungen zu arbeiten, wählten wir eine Durchflußgeschwindigkeit von 10 l pro min. In Voruntersuchungen waren die Gas- und

Narkotikakonzentrationen in verschiedenen Höhen des Gefäßes analysiert worden, wobei sich gezeigt hatte, daß bereits 3 min. nach Versuchsbeginn eine gleichmäßige Durchmischung erreicht war und auch über 4 Stunden konstant blieb.

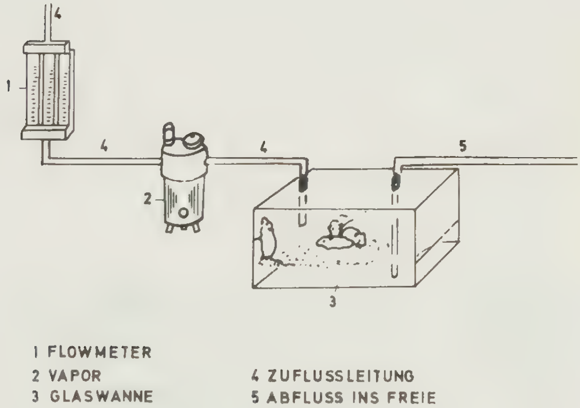


Abb. 1: Versuchsaufbau (Skizze)

4 Tiere wurden gleichzeitig narkotisiert. Die Narkosedauer betrug jeweils 4 Stunden und wurde bei einer Temperatur von 24 - 26° C durchgeführt. Nach Beendigung des Versuches bekamen die Tiere für 10 min. reinen Sauerstoff. Erst als die Tiere wach waren, wurden sie in ihre Käfige umgesetzt. Dadurch wurde eine Diffusionshypoxie mit eventueller Todesfolge kurz nach dem Umsetzen verhindert. Das Eintreten einer Diffusionshypoxie beschreibt u. a. ZINDLER (Lit. 53) nach Umstellen einer Lachgasnarkose auf reine Luftatmung.

Aus Rücksichtnahme auf die bekannte Tagesrhythmik der Tiere wurde die Narkose immer zur gleichen Tageszeit durchgeführt (12 - 16 h). Exakt 40 Stunden später wurden die Tiere getötet. Diese Zeitspanne zwischen Beendigung der Narkose und Blutentnahme wurde deshalb gewählt, weil nach CLAUBERG (Lit. 10) dann das Maximum eventueller Enzymerhöhungen zu erwarten ist.

Zur Herstellung des Gasgemisches (Sauerstoff, Lachgas, Kohlendioxyd) benutzten wir geeichte Rotameter des DRÄGER-WERKES, Lübeck.

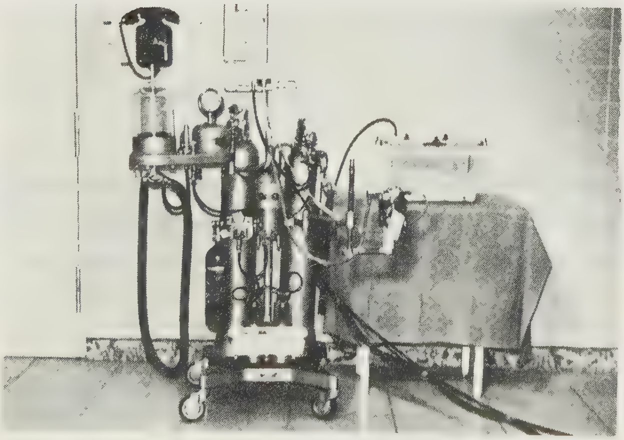


Abb. 2: Versuchsaufbau

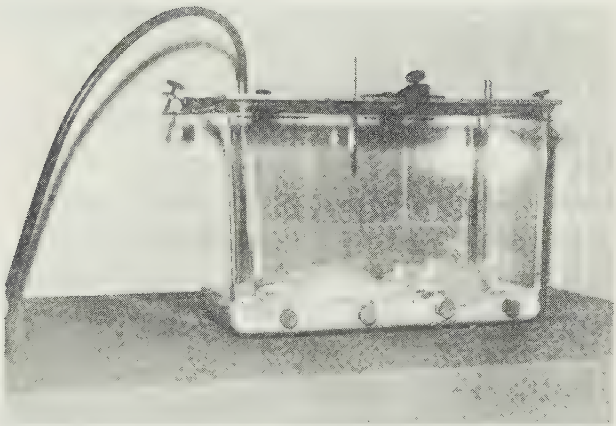


Abb. 3: Versuchsaufbau

Als Penthrane-Verdampfer diente ein Vapor derselben Firma. Bei einem Durchfluß von 10 l pro min. beträgt die Abweichung des Gerätes laut Angabe des Werkes weniger als $\pm$ 1 % des eingestellten Wertes.

3. Versuchsgruppen

In Vorversuchen war unter extremen Hypoxiebedingungen (8 % Sauerstoff + 92 % Lachgas) ein Teil der Tiere auch ohne Zusatz von Penthrane an Kreislaufkomplikationen gestorben.
Eine stärkere Hyperkapnie (42,5 % Sauerstoff, 42,5 % Lachgas, 15 % Kohlendioxyd) war nur von wenigen Tieren toleriert worden.
Um die Mortalität der Tiere unter der Narkose möglichst gering zu halten, wurden die in Tabelle 1 angegebenen Bedingungen gewählt.

Die unter Penthrane in Tabelle 1 angegebenen Konzentrationen entsprechen dem zur Erhaltung einer modernen Langzeitnarkose üblichen Gasgemisch, wie es z. B. bei einer Herzoperation in der Klinik Verwendung findet.
Die künstlich erzeugte Hypoxie und Hyperkapnie könnten in der Praxis durch einen Defekt im System oder durch Komplikationen von Seiten des Kreislaufs bzw. der Atmung des Patienten auftreten.

Die Tiere wurden in 6 Gruppen eingeteilt.

Tabelle 1: Versuchsgruppen

Gruppe	Narkose-dauer	Sauer-stoff	Lach-gas	Kohlen-dioxyd	Penthrane
Kontroll-tiere	-----	-----	-----	-----	-----
Hypoxie	4 h	12 %	88 %	-----	-----
Penthrane	4 h	50 %	50 %	-----	0,4 Vol%
Penthrane und Hypoxie	4 h	12 %	88 %	-----	0,4 Vol%
Hyperkapnie	4 h	45 %	45 %	10 %	-----
Penthrane und Hyperkapnie	4 h	45 %	45 %	10 %	0,4 Vol%

4. Blutentnahme und Töten der Tiere

A. Blutentnahme während der Narkose

Während der Narkose wurden stichprobenartig bei insgesamt 25 Tieren Blutgasanalysen (ASTRUP-Methode) durchgeführt. Dazu wurde durch eine kleine Bohrung dicht über dem Boden der Wanne, die sonst durch einen Gummistopfen verschlossen war, mittels einer Pinzette oder Klemme der Schwanz des entsprechenden Tieres herausgezogen. Die Schwanzspitze wurde abgeschnitten und die

heraustretenden Blutstropfen mit einer heparinisierten Glaskapillare aufgefangen.
Um den Einfluß der Katecholamine, besonders nach Kohlendioxydgabe (eventuelle Mobilisierung des Leberglykogens) zu beobachten, nahmen wir analog dem oben beschriebenen Verfahren mittels einer 0,1 ml Pipette Proben zur Blutzuckeranalyse ab.

B. Gewinnung des Plasmas zur Enzymbestimmung und Entnahme der Lebern für Homogenat und Histologie

40 Stunden nach Beendigung der Narkose wurden die Tiere gewogen und durch einen kurzen Ätherrausch betäubt. In Vorversuchen war nachgewiesen worden, daß ein Ätherrausch von wenigen Minuten vor dem Töten der Tiere keinerlei Einfluß auf die Enzymaktivitäten hat.

Das Herz der Tiere wurde punktiert. Hierzu wurden mit Ammoniumheparinat versehene Monovetten der Firma WALTER SARSTEDT (Kunststoffspritzengußwerk, Nümbrecht-Rommelsdorf) verwendet.

Anschließend wurden die Lebern herauspräpariert. Die Lebern wurden kurz in physiologischer Kochsalzlösung gespült, gewogen und makroskopisch begutachtet. Eine Scheibe jeder Leber wurde für die spätere Enzymbestimmung im Leberhomogenat sofort bei -25^{o} C tiefgefroren. Der Rest der Lebern wurde in 5 %igem Formalin fixiert.

Das heparinisierte Blut wurde sofort zentrifugiert und das hämolysefreie Plasma sofort verarbeitet.

5. Bestimmung der Enzymaktivitäten

Alle enzymatischen Bestimmungen wurden im Plasma vorgenommen. Die Verwendung von Plasma an Stelle von Serum hat den grundsätzlichen Vorteil, daß die Hämolyse, die bei der Blutentnahme und der Gerinnung auftreten kann, deutlich geringer ist (Lit. 11, 44). Beide Vorgänge können besonders starke Erhöhungen des LDH-Spiegels hervorrufen.

A. Prinzipien

Die Aktivitätsmessungen sämtlicher Enzyme erfolgten durch fortlaufende Messung der Enzymkinetik. Dabei werden bis auf die alkalische Phosphatase, LAP und Cholinesterase die Reaktionen gemessen, die mit NAD bzw. NADP gekoppelt sind. Bei den letzteren wird direkt die Farbintensität des freigesetzten p-Nitrophenols und p-Nitroanilins bzw. des Thionitrobenzoats gemessen.

B. Geräte

Die Messungen wurden mit Geräten des Institutes für Klinische Chemie durchgeführt.

Zur Verwendung kamen Eppendorf-Photometer mit Küvettenwechselautomatik (temperierbare Küvettenhalter für 6 Küvetten), Registriereinrichtungen, Eppendorf-Halbmikroküvetten und elektrischer Rührstab (mikro Mix). (EPPENDORF GERÄTEBAU, Netheler-Hinz GmbH, Hamburg.)

C. Arbeitsweise

Die Enzymaktivitäten wurden im Mikroliter-Maßstab bestimmt und die Lösungen in Halbmikroküvetten angesetzt. Die Bestimmungsansätze wurden in Tabelle 2 aufgeführt.

Als Reagentien dienten die entsprechenden Test-Kombinationen (BOEHRINGER - MANNHEIM).

Außer bei der ChE, LDH und α-HBDH wurden die Aktivitäten mit der Küvettenwechselautomatik bestimmt. Bei der GOT, GPT, GLDH, CPK, LAP und APh (alkalische Phosphatase) betrugen die Reaktionszeiten 3 x 15 Sekunden, während die Aktivitäten der ChE, LDH und HBDH über 60 Sekunden fortlaufend gemessen wurden.

Die Enzymaktivität ergab sich nach der Formel:

$$mU/ml = tg\,\alpha \times F$$

Die einzelnen Faktoren (F) für den Enzymwinkel $\alpha = 45^{\circ}$ wurden ebenfalls in Tabelle 2 zusammengestellt.

<u>Tabelle 2:</u> Methodische Bestimmungen der Enzymaktivitäten

	GOT	GPT	GLDH Leerwert	GLDH Hauptwert	CPK	LAP	APh	ChE	LDH	α-HBDH
Serum 1	100	100	200	200	20	50	20	10	50	50
Puffersubstrat 1	500	500	500	500	500	500	1000	1000	500	500
Vorinkubation min	0	0	20	20 dann 10 1 α-KG	5	5	0	0	0	0
Wellenlänge nm	334	334	334	334	334	405	405	405	366	366
Temperatur °C	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Spreizung Δ E=1,0 in cm	40	40	40	40	40	40	20	20	20	20
Papiervorschub cm/min	2	2	1	1	2	2	2	2	2	2
Faktor mU/ml bei α =45°	50	50	14,6	14,6	217	55,6	275	760	333	333
Leerwert abziehen	-	-		+	+	-	-	+	-	-

α-KG = α-Ketoglutarat

6. Weitere klinisch-chemische Untersuchungen

A. Hämoglobin

Der Hämoglobingehalt im Serum wurde nach der Hämoglobinzyanidmethode bestimmt (Lit. 28).

B. Hämatokrit

Den Hämatokritwert ermittelten wir nach der Methode von STRUMIA (Lit. 28).

C. Gesamteiweiß

Die Gesamteiweißbestimmung erfolgte nach der BIURET-Methode (Lit. 28), die sich sehr einfach durchführen läßt. Die Ergebnisse sind reproduzierbar und stimmen gut mit der KJELDAHL-Methode überein. Die Bestimmungen ließen wir im Labor der Medizinischen Poliklinik vornehmen.

D. Blutzucker

Der Blutzucker wurde mittels einer Reduktionsmethode bestimmt, d.h. es wurden außer Glukose auch die Reduktone anderer Zucker erfaßt. Das benutzte Verfahren ist eine Modifikation der von W.S. HOFFMAN eingeführten Methode.
Die Bestimmungen wurden mit einem Autoanalyzer der Firma TECHNICON durchgeführt.

E. Blutgasanalyse

Die Blutgasanalyse bzw. den Säure-Basen-Status des Blutes ermittelten wir nach der ASTRUP-Methode. Es wurde ein ASTRUP-Apparat ("Astrup micro equipment", Radiometer Kopenhagen, Firma Kurt HILLERKUS, Krefeld) benutzt.
Der pO_2 wurde mittels einer O_2-Elektrode derselben Firma bestimmt.

7. Herstellen des Leberhomogenats

In einem HEIDOLPH-Homogenisator (Firma HEIDOLPH, Elektro KG, Kelkheim) wurden 200 mg Leber in 2 ml physiologischer Kochsalzlösung für 4 - 5 min. gepottert. Anschließend wurde das Homogenat bei 5000 U/min zentrifugiert. Das zellfreie Stammhomogenat blieb bis zur Aufarbeitung am gleichen Tag im Kühlschrank.
Für die Aktivitätsbestimmungen der Enzyme GOT, GPT, GLDH, LAP, alkalische Phosphatase, Cholinesterase und LDH wurde nach den oben beschriebenen Methoden vorgegangen.

8. Histologie

Fixierung dünner Leberscheiben aus beiden Leberlappen in 5 % Formalin für wenigstens 24 Stunden. Entwässerung mit 70 %igem, 80 %igem und 90 %igem Alkohol, jeweils 60 min.. Entfernen des Alkohols durch Einlegen der Schnitte in Chloroform für 40 - 60 min. bei 30^{o} C im Brutschrank der Firma MEMMERT. Überführen der Schnitte in weiches Paraffin (Schmelzpunkt 42 - 44^{o} C) und in hartes Paraffin (Schmelzpunkt 57 - 60^{o} C) jeweils für 60 min.,

dann Ausgießen in hartes Paraffin. Anfertigen von 4 μ dicken Schnitten mit dem Schlittenmikrotom der Firma JUNG, Heidelberg. Die Gefrierschnitte wurden mit dem Gefriermikrotom der Firma E. LEITZ, Wetzlar, hergestellt.
Als Färbungen wurden verwendet:
Hämotoxylin-Eosin, van Gieson, Scharlachrot, Berliner-Blau-Reaktion, PAS-Reaktion.
Alle Schnitte wurden mit Eukitt eingedeckt und mit Deckgläschen versehen.
Für die PAS-Reaktion Verwendung von cornoy-fixiertem Lebergewerbe, die Schnitte wurden mit einem Celloidin-Häutchen versehen.

9. Phototechnik

Die mikroskopischen Aufnahmen wurden mit dem Mikroskop ORTHOLUX und der Mikroskopkamera ORTHOMAT der Firma E. LEITZ GmbH, Wetzlar, durchgeführt. Als Filme wurden vorwiegend Ilford PAN F ASA Din 18 benutzt.

10. Messung des relativen Lebergewichts

$$\text{relatives Lebergewicht} = \frac{\text{absolutes Lebergewicht}}{\text{Rattengewicht}} \cdot 100$$

11. Statistik

Bei der statistischen Auswertung der Meßwerte bedienten wir uns der einfachen Varianzanalyse mit Paarvergleich nach SCHEFFE.

Die Berechnungen wurden sowohl mit den reellen Meßwerten als auch mit den Logarithmen der Meßwerte durchgeführt.

Errechnet wurden:

a. Mittelwerte

b. Varianz

c. Standardabweichung

Mit Hilfe der Varianzanalyse konnten für jedes Enzym die Mittelwerte der einzelnen Versuchsgruppen mit denen der Kontrollgruppe verglichen werden (Lit. 52).

Der t-Test gab signifikante Unterschiede beim Vergleich verschiedener Mittelwerte an (Lit. 40). Die Signifikanz wurde sowohl für 5 % als auch für 1 % Irrtumswahrscheinlichkeit angegeben.

Daraus ergab sich:

nicht signifikant, wenn $p > 0,05$

signifikant, wenn $p < 0,05$

hoch signifikant, wenn $p < 0,01$

Die Berechnungen wurden im Institut für Medizinische Statistik vorgenommen.

III. KRITIK DER METHODIK

1. Messung der Enzymaktivitäten

Durch methodische Fehler, z. B. Pipettierfehler, geringe Temperaturschwankungen oder unterschiedliches Alter der Lösungen ergeben sich bei der Messung der Enzymaktivitäten erhebliche Abweichungen. Dieses dokumentiert eine Veröffentlichung (Lit. 49) über die Qualitätskontrollen eines Enzymlabors. Es wurde auf zwei verschiedenen Wegen kontrolliert, inwieweit die Messungen reproduzierbar waren. Dabei ergab sich, als täglich käufliche Testseren mitbestimmt wurden, eine Präzision zwischen 2 und 7 % und, als Patientenseren am folgenden Tag nochmals bestimmt wurden, eine Präzision von 7 bis 15 %.

2. Aktivitätsbestimmung der γ-Glutamyl-Transpeptidase

In den Rahmen der Bestimmung von Aktivitäten der Leberenzyme gehört auch die γ-Glutamyl-Transpeptidase. Mit der LAP und der APh ist sie eines der cholestase-anzeigenden Enzyme und erfaßt in Kombination mit den Transaminasen (GOT, GPT) einen großen Teil aller hepatobiliären Erkrankungen (Lit. 47). Bei den Bestimmungen im Serum der Ratten lag die Aktivität des Enzyms unter 1,0 mU/ml. Dies entspricht einer Veröffentlichung von SZASZ (Lit. 48), wonach die Aktivität im Serum der Ratten bei 0,6 mU/ml und im Leberhomogenat bei 0,13 U/g liegt. Da die Aktivität sowohl im Serum als auch im Homogenat so gering ist, wurde auf die Auswertung dieses Enzyms verzichtet.

3. Blutgasanalyse nach ASTRUP

Es ist bekannt, daß bei der Blutgasanalyse Unterschiede auftreten, je nachdem, ob es sich um arterielles Blut, Kapillarblut oder venöses Blut handelt (Lit. 38). Dabei kommen die Werte des Kapillarblutes denen des arteriellen Blutes noch ziemlich nahe. Da wir aber gezwungen waren, unter der Narkose unseren Tieren Blut abzunehmen, ohne die Versuchsbedingungen wesentlich zu stören, mußten wir uns mit dem aus dem abgeschnittenen Schwanz austretenden Mischblut begnügen.

IV. ERGEBNISSE

1. Sterblichkeit der Tiere

Tabelle 3: Statistik der Versuchstiere

	a	b	c	d	e
Kontroll-werte	87	---	---	19	68
	100 %	---	---	21,9 %	78,1 %
Hypoxie	47	---	---	2	45
	100 %	---	---	4,3 %	95,7 %
Penthrane	54	2	1	12	39
	100 %	3,7 %	1,9 %	22,2 %	72,2 %
Penthrane u. Hypoxie	69	23	---	14	32
	100 %	33,3 %	---	20,3 %	46,4 %
Hyperkapnie	28	---	---	1	27
	100 %	---	---	3,6 %	96,4 %
Penthrane u. Hyperkapnie	32	5	2	5	20
	100 %	15,6 %	6,4 %	15,6 %	62,5 %
Summe	317	30	3	53	231
	100 %	9,5 %	0,9 %	16,8 %	72,8 %

a = Anzahl der Tiere, die in den Versuch gekommen sind.

b = Anzahl der unter der Narkose verstorbenen Tiere.

c = Anzahl der nach der Narkose verstorbenen Tiere.

d = Anzahl der Tiere, bei denen haemolytisches Blut erhalten wurde.

e = Anzahl der Tiere, deren Plasma zur Enzymbestimmung verwendet wurde.

Die Mortalität (Tabelle 3) während der Narkose war bei der Penthrane-Hypoxie-Gruppe auffällig hoch (33,3 %). Ebenfalls hoch (Tabelle 3) war die Sterblichkeit in der Penthrane-Hyperkapnie-Gruppe (15,6 %).

Zur Klärung der Todesursache wurden den verstorbenen Tieren die Lebern entnommen (bis 30 min. post mortem) und histologisch untersucht.

Makroskopisch waren die Lebern groß und schwer. Sie zeigten düsterblaue Punkte auf der Oberfläche.

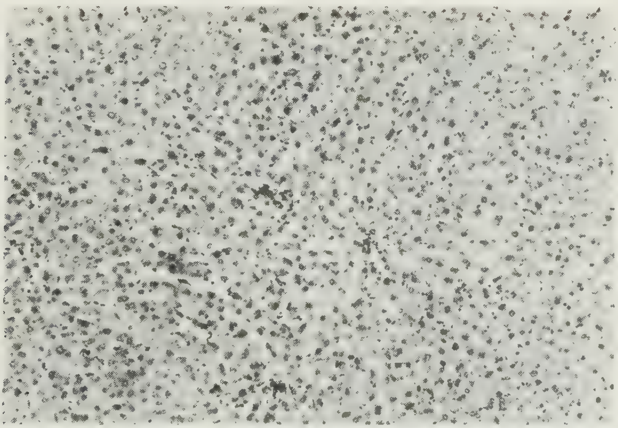


Abb. 4: Leberschnitt einer 200 g schweren weiblichen Ratte, Tod während einer hypoxischen Penthranenarkose (12 % O_2, 88 % N_2O, 0,4 Vol% Penthrane). Verschmälerte Leberzellbalken, besonders zentralnahe. Erythrozyten in den erweiterten Sinus. Negative PAS-Reaktion. HE, 100x.

Histologisch waren die Periportalfelder schmal, unauffällig und nicht entzündlich infiltriert. In den Sinus, im Lumen der Zentralvenen und der Portaläste sah man massenhaft Erythrozyten, besonders zentralnahe waren die Leberzellbälkchen verschmälert und die Sinus erweitert. Die Leberzellen selbst färbten sich vermehrt acidophil, die Leberzellkerne waren bläschenförmig vergrößert, das Chromatingerüst locker strukturiert, die Nucleoli groß. Es wurde kein PAS-positives Material mehr in den Zellen gespeichert. Diese histologischen Untersuchungen sprachen für eine akute Stauungsleber, die Tiere verstarben wahrscheinlich in der Rechtsherzinsuffizienz durch Hypoxie.

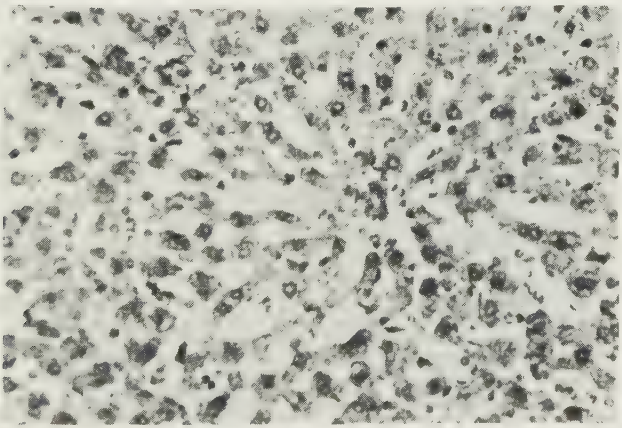


Abb. 5: Leberschnitt einer 200 g schweren weiblichen Ratte. Tod während einer hypoxischen Penthranenarkose (12 % O_2, 88 % N_2O, 0,4 Vol% Penthrane). Befund wie oben. Zentralnahe Region (Z).
HE, 250x.

2. Ergebnisse der Blutgasanalyse

Die Ergebnisse der Blutgasanalyse sind für die Gruppe "Penthrane und Hypoxie" in Tabelle 4 dargestellt.

Tabelle 4: Blutgasanalysen der Penthrane-Hypoxiegruppe (Mittelwerte)

	nach 1 h Penthrane und Hypoxie	nach 3 h Penthrane und Hypoxie
Aktuelles pH	7,41	7,31
Aktuelles pCO_2	42,4	52,0
Basen-überschuß	+ 1,4	- 0,1
Puffer-Basen	53,1	43,7
Standard-Bicarbonat	25,6	24,2
Aktuelles Bicarbonat	24,8	25,5
Totales CO_2	26,9	28,8
Aktuelles pO_2	59	45

Die Ergebnisse der Blutgasanalyse sind für die Gruppe "Penthrane und Hyperkapnie" in Tabelle 5 dargestellt.

Tabelle 5: Blutgasanalyse der Penthrane-Hyperkapnie-Gruppe (Mittelwerte)

	a	b	c	d
Aktuelles pH	7,25	7,18	7,13	7,07
Aktuelles pCO_2	79,0	87,9	104,8	124,5
Basenüberschuß	+2,8	+1,6	+0,6	-0,6
Puffer-Basen	50,8	47,6	47,8	47,1
Standard-Bicarbonat	26,9	25,8	24,8	23,8
Aktuelles Bicarbonat	32,4	32,9	34,6	36,6
Totales CO_2	34,5	35,7	36,5	37,5
Aktuelles pO_2	104	145	186	212

a = nach 1 h Penthrane und Hyperkapnie

b = nach 2 h Penthrane und Hyperkapnie

c = nach 3 h Penthrane und Hyperkapnie

d = nach 4 h Penthrane und Hyperkapnie

3. Ergebnisse der Blutzuckerbestimmung

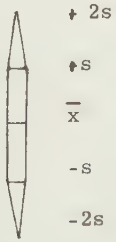
Das Verhalten des Blutzuckerspiegels entsprach in den Gruppen "Hypoxie", "Penthrane" und "Penthrane-Hypoxie" dem der Kontrolltiere.
Lediglich in der Hyperkapnie-Gruppe hätte man über eine Adrenalinausschüttung eine Mobilisierung der Glukosedepots (Phosphorolyse des Glykogens) in der Leber erwarten sollen (Lit. 35). Dies hat sich nicht bestätigen lassen.

Die Ergebnisse der Blutzuckerbestimmung in den Gruppen "Hyperkapnie" und "Penthrane und Hyperkapnie" korrespondierten mit denen aller anderen Gruppen.

Die Meßwerte aller Gruppen lagen zwischen 86 und 110 mg%.
Ein signifikanter Unterschied der einzelnen Gruppen zu den Kontrollgruppen ließ sich nicht feststellen.

4. Ergebnisse der Enzymaktivitätsmessung

Um die Ergebnisse der Enzymaktivitätsbestimmungen darzustellen, wurden graphische Abbildungen und statistische Tabellen benutzt. Die Ergebnisse aus Plasma und Homogenat wurden getrennt behandelt. Für ein Enzym wurde eine Abbildung gewählt.
Die Mittelwerte, die einfache und die doppelte Standardabweichung der Meßwerte der einzelnen Versuchsgruppen wurden nebeneinander aufgezeichnet. Dazu benutzten wir ausschließlich die Logarithmen der Werte und fertigten die Zeichnungen im logarithmischen Maßstab an.
Begründung: Die logarithmischen und geometrischen Mittelwerte unterschieden sich nur unwesentlich. Die Werte verteilten sich symmetrisch.Große Streuungen konnten übersichtlich eingezeichnet werden.



Die zu jeder Abbildung gehörige Tabelle enthält:
1. Die Anzahl der Tiere pro Gruppe.
2. Die Mittelwerte der Meßwerte pro Gruppe.
3. Die einfache Standardabweichung der Werte einer Gruppe.
4. Die doppelte Standardabweichung der Werte einer Gruppe.
5. Die Angabe, ob ein signifikanter Unterschied zur Kontrollgruppe besteht.

A. Enzymaktivitätsmessung im Plasma

a. GOT

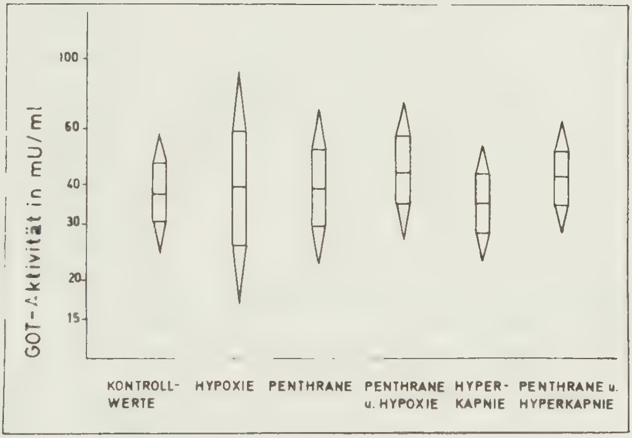


Abbildung 6, Tabelle 6:

GOT-Aktivität im Plasma. Vergleich zwischen der Kontrollgruppe und den 5 Versuchsgruppen auf Grund der einfachen Varianzanalyse mit Paarvergleich nach SCHEFFE.

	n	$\bar{x}$ (mU/ml)	$\bar{x} \pm s$ (mU/ml)	$\bar{x} \pm 2s$ (mU/ml)	Signifikanz
Kontroll-werte	68	37,7	30,2-47,1	24,2-58,7	---------
Hypoxie	45	39,2	25,8-59,5	16,9-90,5	$p > 0,05$
Penthrane	39	39,2	29,6-52,0	22,3-69,0	$p > 0,05$
Penthrane u. Hypoxie	32	43,9	34,2-56,4	26,6-72,5	$p > 0,05$
Hyperkapnie	27	35,3	28,5-43,8	23,0-54,3	$p > 0,05$
Penthrane u. Hyperkapnie	20	42,2	34,3-51,8	28,0-63,7	$p > 0,05$

b. GPT

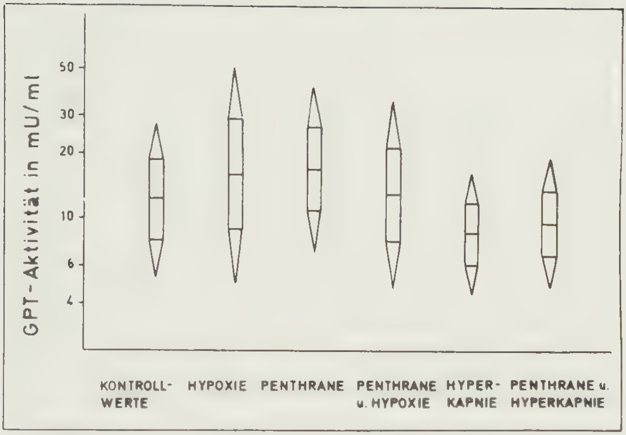


Abbildung 7, Tabelle 7:

GPT-Aktivität im Plasma. Vergleich zwischen der Kontrollgruppe und den 5 Versuchsgruppen auf Grund der einfachen Varianzanalyse mit Paarvergleich nach SCHEFFE.

	n	$\bar{x}$ (mU/ml)	$\bar{x} \pm s$ (mU/ml)	$\bar{x} \pm 2s$ (mU/ml)	Signifikanz
Kontroll-werte	68	12,1	7,98-17,8	5,26-27,9	----------
Hypoxie	45	15,8	8,86-28,3	4,96-50,5	$p > 0,05$
Penthrane	39	16,8	10,8-26,2	6,97-40,8	$p < 0,05$
Penthrane u. Hypoxie	32	13,0	7,81-21,7	4,69-36,1	$p > 0,05$
Hyperkapnie	27	8,50	6,07-11,9	4,33-16,6	$p > 0,05$
Penthrane u. Hyperkapnie	20	9,55	6,71-13,6	4,71-19,3	$p > 0,05$

c. GLDH

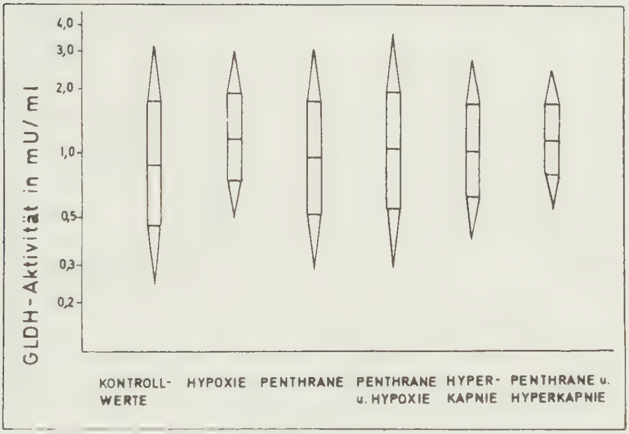


Abbildung 8, Tabelle 8:

GLDH-Aktivität im Plasma. Vergleich zwischen der Kontrollgruppe und den 5 Versuchsgruppen auf Grund der einfachen Varianzanalyse mit Paarvergleich nach SCHEFFE.

	n	$\bar{x}$ (mU/ml)	$\bar{x} \pm s$ (mU/ml)	$\bar{x} \pm 2s$ (mU/ml)	Signifikanz
Kontroll-werte	68	0,89	0,46-1,75	0,24-3,30	---------
Hypoxie	45	1,19	0,75-1,90	0,47-3,03	$p > 0,05$
Penthrane	39	0,95	0,52-1,74	0,28-3,17	$p > 0,05$
Penthrane u. Hypoxie	32	1,03	0,55-1,93	0,29-3,61	$p > 0,05$
Hyperkapnie	27	1,05	0,64-1,70	0,39-2,78	$p > 0,05$
Penthrane u. Hyperkapnie	20	1,17	0,80-1,70	0,55-2,49	$p > 0,05$

d. CPK

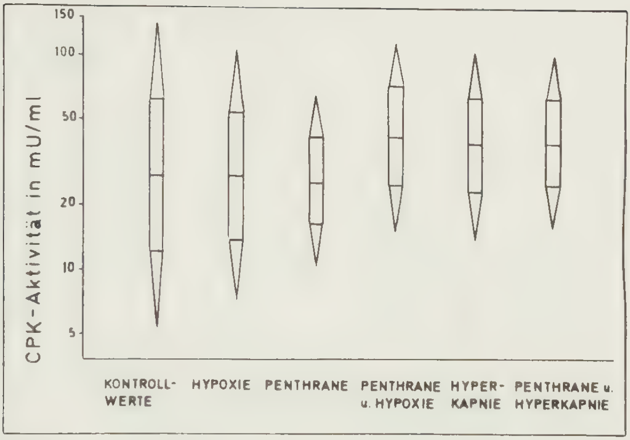


Abbildung 9, Tabelle 9:

CPK-Aktivität im Plasma. Vergleich zwischen der Kontrollgruppe und den 5 Versuchsgruppen auf Grund der einfachen Varianzanalyse mit Paarvergleich nach SCHEFFE.

	n	$\bar{x}$ (mU/ml)	$\bar{x} \pm s$ (mU/ml)	$\bar{x} \pm 2s$ (mU/ml)	Signifikanz
Kontroll-werte	68	27,4	12,0-62,7	5,24-143,6	---------
Hypoxie	45	27,6	13,9-54,9	7,03-108,9	$p > 0,05$
Penthrane	39	40,9	25,7-65,0	16,1-103,6	$p > 0,05$
Penthrane u. Hypoxie	32	41,5	24,1-71,2	14,0-122,4	$p > 0,05$
Hyperkapnie	27	38,2	22,8-64,1	13,6-107,6	$p > 0,05$
Penthrane u. Hyperkapnie	20	38,9	24,1-62,8	16,9-101,4	$p > 0,05$

e. LAP

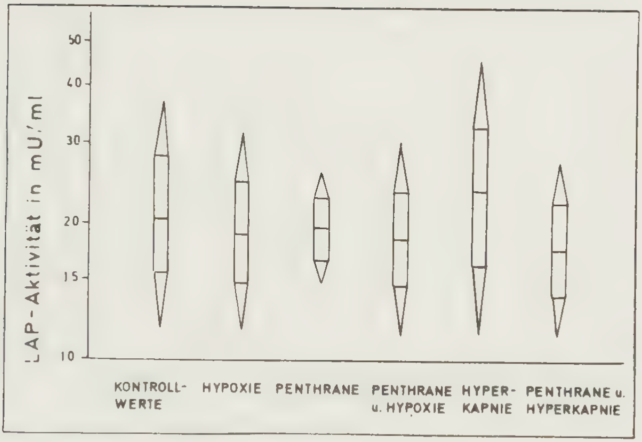


Abbildung 10, Tabelle 10:

LAP-Aktivität im Plasma. Vergleich zwischen der Kontrollgruppe und den 5 Versuchsgruppen auf Grund der einfachen Varianzanalyse mit Paarvergleich nach SCHEFFE.

	n	$\bar{x}$ (mU/ml)	$\bar{x} \pm s$ (mU/ml)	$\bar{x} \pm 2s$ (mU/ml)	Signifikanz
Kontroll-werte	68	20,40	15,40-27,01	11,62-35,79	-------
Hypoxie	45	19,04	14,69-24,67	11,33-31,99	$p > 0,05$
Penthrane	39	19,13	16,47-22,21	14,18-25,79	$p > 0,05$
Penthrane u. Hypoxie	32	18,44	14,48-23,48	11,38-29,90	$p > 0,05$
Hyperkapnie	27	23,05	16,24-32,74	11,44-46,49	$p > 0,05$
Penthrane u. Hyperkapnie	20	17,61	13,93-22,26	11,02-28,14	$p > 0,05$

f. APh

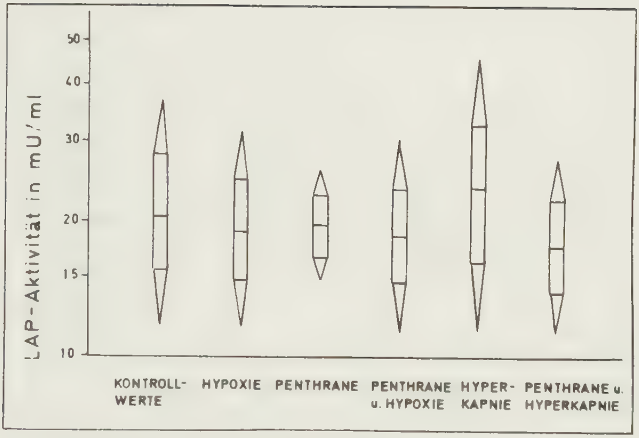


Abbildung 11, Tabelle 11:

APh-Aktivität im Plasma. Vergleich zwischen der Kontrollgruppe und den 5 Versuchsgruppen auf Grund der einfachen Varianzanalyse mit Paarvergleich nach SCHEFFE.

	n	$\bar{x}$ (mU/ml)	$\bar{x} \pm s$ (mU/ml)	$\bar{x} \pm 2s$ (mU/ml)	Signifikanz
Kontroll-werte	68	155,9	120,7-201,4	93,41-260,1	------
Hypoxie	45	136,5	87,96-211,8	56,69-328,6	$p > 0,05$
Penthrane	39	146,2	105,9-201,8	76,76-278,4	$p > 0,05$
Penthrane u. Hypoxie	32	125,0	84,76-184,4	57,46-272,0	$p > 0,05$
Hyperkapnie	27	163,6	115,9-231,9	82,13-326,0	$p > 0,05$
Penthrane u. Hyperkapnie	20	150,0	115,6-194,5	89,16-252,2	$p > 0,05$

g. ChE

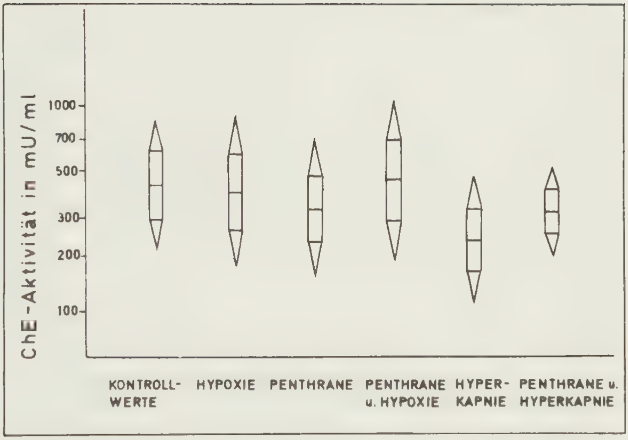


Abbildung 12, Tabelle 12:

ChE-Aktivität im Plasma. Vergleich zwischen der Kontrollgruppe und den 5 Versuchsgruppen auf Grund der einfachen Varianzanalyse mit Paarvergleich nach SCHEFFE.

	n	$\bar{x}$ (mU/ml)	$\bar{x} \pm s$ (mU/ml)	$\bar{x} \pm 2s$ (mU/ml)	Signifikanz
Kontroll-werte	68	426,8	296,5-614,3	205,9-884,3	--------
Hypoxie	45	395,2	260,3-599,9	171,5-910,7	$p > 0,05$
Penthrane	39	333,0	228,6-285,2	156,9-706,8	$p > 0,05$
Penthrane u. Hypoxie	32	448,7	289,2-696,0	186,4-1080	$p > 0,05$
Hyperkapnie	27	237,4	168,7-334,1	119,9-470,1	$p < 0,01$
Penthrane u. Hyperkapnie	20	320,3	251,8-407,5	198,0-530,4	$p > 0,05$

h. LDH

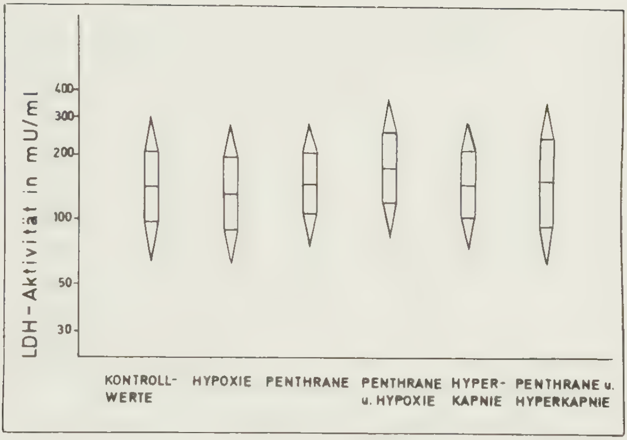


Abbildung 13, Tabelle 13:

LDH-Aktivität im Plasma. Vergleich zwischen der Kontrollgruppe und den 5 Versuchsgruppen auf Grund der einfachen Varianzanalyse mit Paarvergleich nach SCHEFFE.

	n	$\bar{x}$ (mU/ml)	$\bar{x} \pm s$ (mU/ml)	$\bar{x} \pm 2s$ (mU/ml)	Signifikanz
Kontroll-werte	68	140,1	131,2-206,2	64,61-303,6	-------
Hypoxie	45	130,9	88,91-192,8	60,40-283,8	$p > 0,05$
Penthrane	39	148,0	105,7-207,2	75,42-290,5	$p > 0,05$
Penthrane u. Hypoxie	32	176,7	120,4-259,5	81,97-381,0	$p > 0,05$
Hyperkapnie	27	147,2	102,1-212,3	70,82-306,1	$p > 0,05$
Penthrane u. Hyperkapnie	20	151,1	94,66-241,3	59,29-385,3	$p > 0,05$

i. α -HBDH

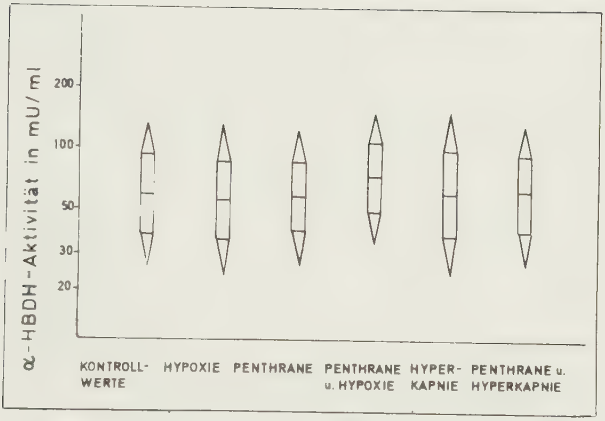


Abbildung 14, Tabelle 14:

α -HBDH-Aktivität im Plasma. Vergleich zwischen der Kontrollgruppe und den 5 Versuchsgruppen auf Grund der einfachen Varianzanalyse mit Paarvergleich nach SCHEFFE.

	n	$\bar{x}$ (mU/ml)	$\bar{x} \pm s$ (mU/ml)	$\bar{x} \pm 2s$ (mU/ml)	Signifikanz
Kontrollwerte	68	58,20	37,48-90,36	24,14-138,9	-----
Hypoxie	45	55,17	35,59-85,52	22,96-132,6	$p > 0,05$
Penthrane	39	57,29	38,60-85,52	26,01-126,2	$p > 0,05$
Penthrane u. Hypoxie	32	71,94	48,61-106,5	32,84-157,6	$p > 0,05$
Hyperkapnie	27	60,09	37,06-97,43	22,86-158,0	$p > 0,05$
Penthrane u. Hyperkapnie	20	60,68	39,68-93,33	25,87-130,5	$p > 0,05$

B. Enzymaktivitätsmessung im Homogenat

a. GOT

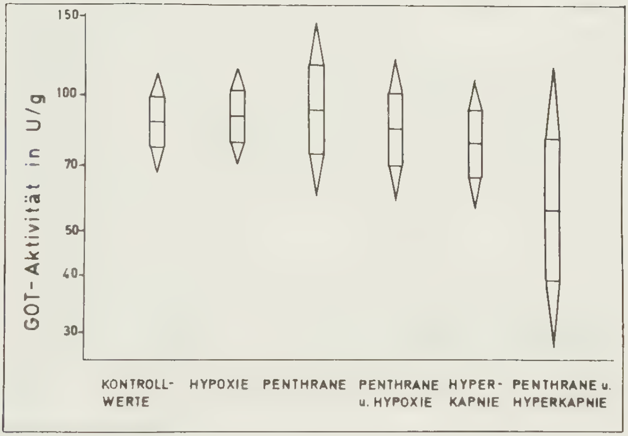


Abbildung 15, Tabelle 15:

GOT-Aktivität im Homogenat. Vergleich zwischen der Kontrollgruppe und den 5 Versuchsgruppen auf Grund der einfachen Varianzanalyse mit Paarvergleich nach SCHEFFE.

	n	$\bar{x}$ (U/g)	$\bar{x} \pm s$ (U/g)	$\bar{x} \pm 2s$ (U/g)	Signifikanz
Kontroll-werte	6	87,36	76,79-99,39	67,50-113,0	-----
Hypoxie	6	90,03	78,94-102,7	69,22-117,1	$p > 0,05$
Penthrane	6	93,72	74,25-118,3	58,83-149,3	$p > 0,05$
Penthrane u. Hypoxie	6	84,58	70,08-102,1	58,06-123,8	$p > 0,05$
Hyperkapnie	8	78,61	66,38-93,12	56,04-110,3	$p > 0,05$
Penthrane u. Hyperkapnie	6	56,04	39,02-80,66	27,17-115,6	$p < 0,05$

b. GPT

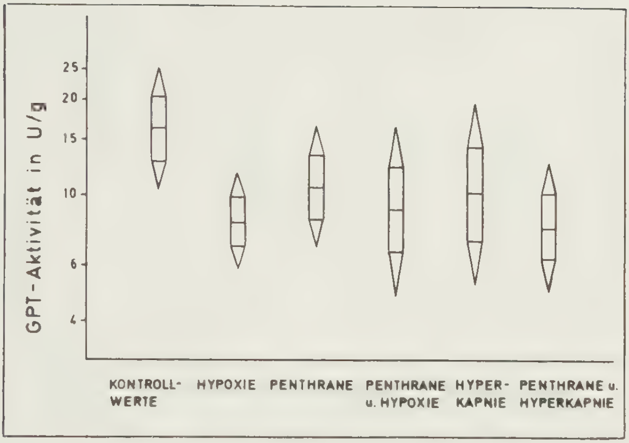


Abbildung 16, Tabelle 16:

GPT-Aktivität im Homogenat. Vergleich zwischen der Kontrollgruppe und den 5 Versuchsgruppen auf Grund der einfachen Varianzanalyse mit Paarvergleich nach SCHEFFE.

	n	$\bar{x}$ (U/g)	$\bar{x} \pm s$ (U/g)	$\bar{x} \pm 2s$ (U/g)	Signifikanz
Kontroll-werte	6	16,17	12,91-20,27	10,30-25,40	-------
Hypoxie	6	8,232	6,901-9,820	5,785-11,71	$p < 0,01$
Penthrane	6	10,61	8,496-13,25	6,804-16,93	$p > 0,05$
Penthrane u. Hypoxie	6	8,960	6,555-12,25	4,796-16,74	$p < 0,05$
Hyperkapnie	8	10,09	7,181-14,16	5,113-19,89	$p > 0,05$
Penthrane u. Hyperkapnie	6	7,985	6,305-10,14	4,979-12,81	$p < 0,01$

c. LAP

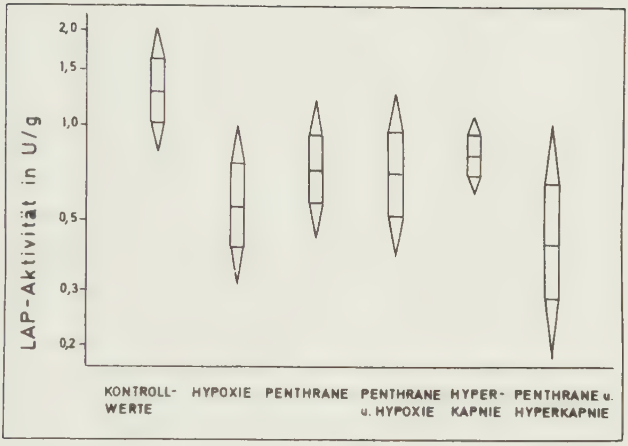


Abbildung 17, Tabelle 17:

LAP-Aktivität im Homogenat. Vergleich zwischen der Kontrollgruppe und den 5 Versuchsgruppen auf Grund der einfachen Varianzanalyse mit Paarvergleich nach SCHEFFE.

	n	$\bar{x}$ (U/g)	$\bar{x} \pm s$ (U/g)	$\bar{x} \pm 2s$ (U/g)	Signifikanz
Kontroll-werte	6	1,274	1,011-1,605	0,802-2,023	----------
Hypoxie	6	0,557	0,411-0,756	0,303-1,025	$p < 0,01$
Penthrane	6	0,727	0,564-0,938	0,437-1,211	$p > 0,05$
Penthrane u. Hypoxie	6	0,707	0,523-0,958	0,386-1,298	$p < 0,05$
Hyperkapnie	8	0,804	0,694-0,392	0,599-1,080	$p > 0,05$
Penthrane u. Hyperkapnie	6	0,428	0,280-0,656	0,183-1,005	$p < 0,05$

d. aPh

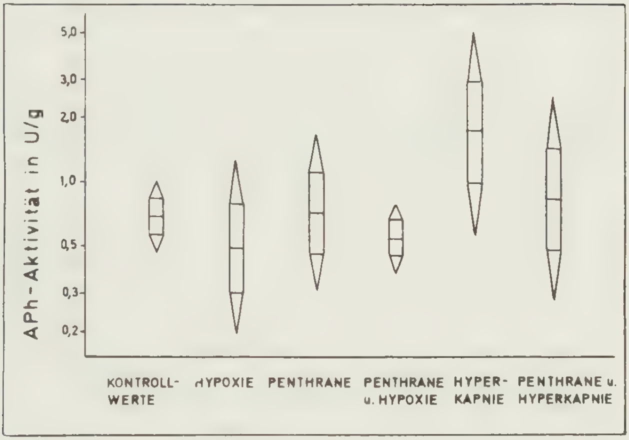


Abbildung 18, Tabelle 18:

aPh-Aktivität im Homogenat. Vergleich zwischen der Kontrollgruppe und den 5 Versuchsgruppen auf Grund der einfachen Varianzanalyse mit Paarvergleich nach SCHEFFE.

	n	$\bar{x}$ (U/g)	$\bar{x} \pm s$ (U/g)	$\bar{x} \pm 2s$ (U/g)	Signifikanz
Kontroll-werte	6	0,690	0,563-0,844	0,459-1,038	---------
Hypoxie	6	0,491	0,302-0,798	0,186-1,296	$p > 0,05$
Penthrane	6	0,718	0,468-1,103	0,305-1,692	$p > 0,05$
Penthrane u. Hypoxie	6	0,548	0,455-0,561	0,377-0,796	$p > 0,05$
Hyperkapnie	8	1,715	0,984-2,988	0,564-5,207	$p > 0,05$
Penthrane u. Hyperkapnie	6	0,830	0,481-1,432	0,279-2,471	$p > 0,05$

e. <u>ChE</u>

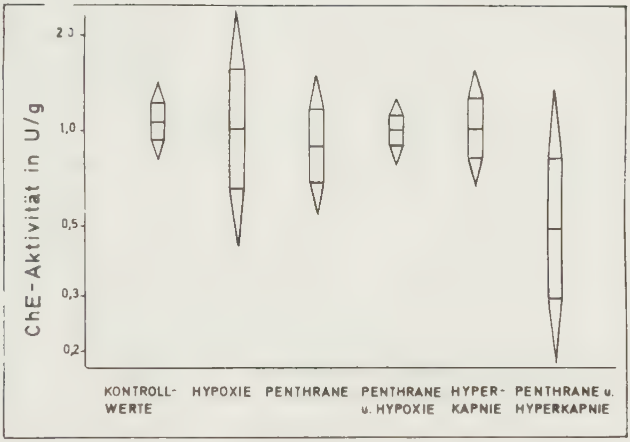


Abbildung 19, Tabelle 19:

ChE-Aktivität im Homogenat. Vergleich zwischen der Kontrollgruppe und den 5 Versuchsgruppen auf Grund der einfachen Varianzanalyse mit Paarvergleich nach SCHEFFE.

	n	$\bar{x}$ (U/g)	$\bar{x} \pm s$ (U/g)	$\bar{x} \pm 2s$ (U/g)	Signifikanz
Kontroll-werte	6	1,083	0,934-1,249	0,809-1,444	---------
Hypoxie	6	1,008	0,650-1,560	0,420-2,414	$p > 0,05$
Penthrane	6	0,899	0,691-1,170	0,531-1,523	$p > 0,05$
Penthrane u. Hypoxie	6	1,098	0,874-1,109	0,776-1,248	$p > 0,05$
Hyperkapnie	8	1,011	0,814-1,255	0,656-1,558	$p > 0,05$
Penthrane u. Hyperkapnie	6	0,488	0,294-0,811	0,177-1,346	$p < 0,05$

f. LDH

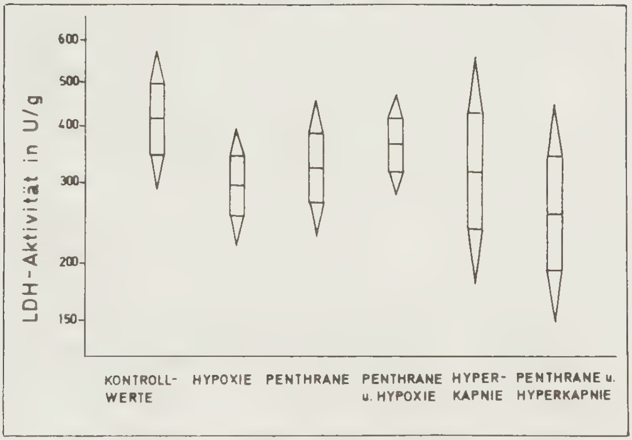


Abbildung 20, Tabelle 20:

LDH-Aktivität im Homogenat. Vergleich zwischen der Kontrollgruppe und den 5 Versuchsgruppen auf Grund der einfachen Varianzanalyse mit Paarvergleich nach SCHEFFE.

	n	$\bar{x}$ (U/g)	$\bar{x} \pm s$ (U/g)	$\bar{x} \pm 2s$ (U/g)	Signifikanz
Kontroll-werte	6	412,3	344,8-492,9	288,4-589,4	---------
Hypoxie	6	293,3	252,2-341,1	216,8-396,7	$p > 0,05$
Penthrane	6	322,5	270,0-358,4	226,0-460,5	$p > 0,05$
Penthrane u. Hypoxie	6	361,7	314,9-415,4	274,1-477,2	$p > 0,05$
Hyperkapnie	8	318,8	238,3-426,7	178,0-521,1	$p > 0,05$
Penthrane u. Hyperkapnie	6	257,1	192,0-334,0	144,2-457,7	$p > 0,05$

g. <u>α -HBDH</u>

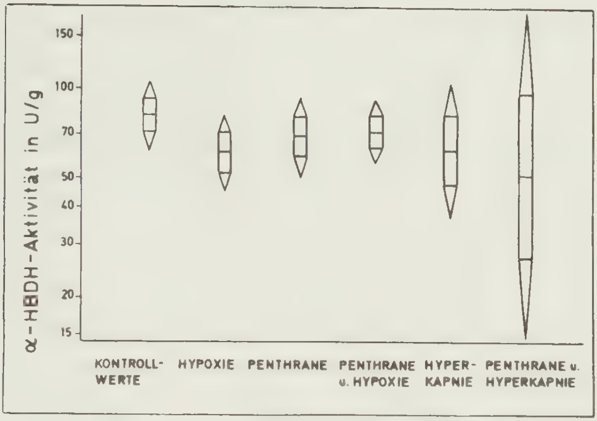


Abbildung 21, Tabelle 21:

α -HBDH-Aktivität im Homogenat. Vergleich zwischen der Kontrollgruppe und den 5 Versuchsgruppen auf Grund der einfachen Varianzanalyse mit Paarvergleich nach SCHEFFE.

	n	$\bar{x}$ (U/g)	$\bar{x} \pm s$ (U/g)	$\bar{x} \pm 2s$ (U/g)	Signifikanz
Kontroll-werte	6	80,85	70,64-92,53	61,73-105,9	----------
Hypoxie	6	60,97	52,01-70,64	45,40-81,87	$p > 0,05$
Penthrane	6	68,64	58,51-80,53	49,86-94,49	$p > 0,05$
Penthrane u. Hypoxie	6	72,47	63,62-82,56	55,85-94,05	$p > 0,05$
Hyperkapnie	8	62,73	47,84-82,27	36,48-107,9	$p > 0,05$
Penthrane u. Hyperkapnie	6	50,82	27,02-95,63	14,36-179,9	$p > 0,05$

5. Relatives Lebergewicht

Analog den Ergebnissen der Enzymaktivitätsbestimmungen wurden für die Darstellung des relativen Lebergewichts eine graphische Abbildung und eine statistische Tabelle gewählt.
Allerdings wurde diesmal mit den reellen Meßwerten gearbeitet, weil die Verteilung annähernd symmetrisch war.

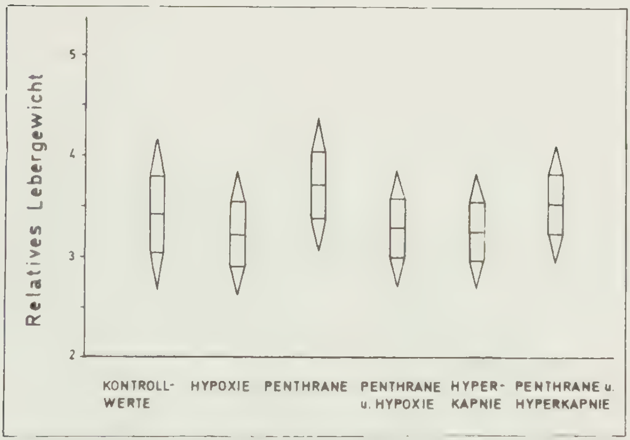


Abbildung 22:
Relatives Lebergewicht. Vergleich zwischen der Kontrollgruppe und den 5 Versuchsgruppen auf Grund der einfachen Varianzanalyse mit Paarvergleich nach SCHEFFE.

Tabelle 22:

Relatives Leberwicht. Vergleich zwischen der Kontrollgruppe und den 5 Versuchsgruppen auf Grund der einfachen Varianzanalyse mit Paarvergleich nach SCHEFFE.

	n	$\bar{x}$	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm 2s$	Signifikanz
Kontroll-werte	68	3,406	3,03-3,79	2,65-4,16	--------
Hypoxie	45	3,208	2,90-3,53	2,59-3,83	$p > 0,05$
Penthrane	39	3,704	3,37-4,03	3,04-4,36	$p < 0,01$
Penthrane u. Hypoxie	32	3,275	2,98-3,56	2,69-3,85	$p > 0,05$
Hyperkapnie	27	3,243	2,95-3,53	2,66-3,82	$p > 0,05$
Penthrane u. Hyperkapnie	20	3,518	3,23-3,81	2,94-4,10	$p > 0,05$

6. Histologische Ergebnisse

A. Kontrolltiere

Makroskopisch erschienen die Lebern normal groß und von unauffälliger Oberfläche. Die Periportalfelder waren nicht entzündlich infiltriert, die Zentralgebiete unauffällig, Zell- und Kerngröße normgerecht. Die PAS-Reaktion ließ eine ausreichende Speicherung von PAS-positivem Material in den Leberzellen erkennen.

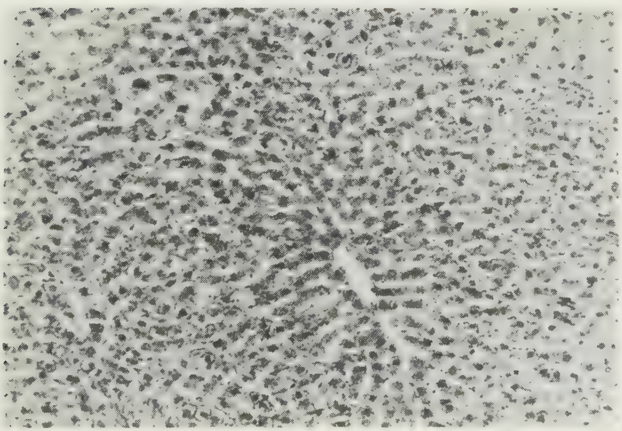


Abb. 23: Leberschnitt einer 200 g schweren weiblichen Ratte, Kontrolltier. Unauffälliges Lebergewebe. HE, 100x.

B. Unter hypoxischen Bedingungen

Die Leberschnitte dieser Tiere unterschieden sich nicht von denen der Kontrollgruppe; keine eindeutige Verfettung der Leber- oder Sternzellen, ausreichende Speicherung PAS-positiven Materials in den Leberzellen, jedoch nicht so ausgeprägt wie in den Leberschnitten der Kontrolltiere.

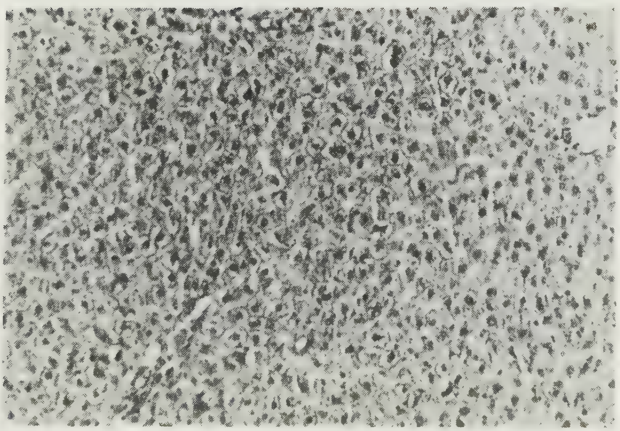


Abb. 24: Leberschnitt einer 200 g schweren weiblichen Ratte, 40 Stunden nach vierstündiger Hypoxie. Unauffälliges Lebergewebe.
HE, 100x.

C. Unter Penthranenarkose

Die Leberschnitte dieser Tiere waren auffällig. Die Leberzellen waren abnorm groß, die Zellmembranen traten deutlich hervor, das Zytoplasma war im HE-Schnitt wasserhell, der Kern blieb aber mittelständig. Daneben kamen große kernlose Vakuolen vor. Die PAS-Reaktion ließ nur mäßig viel Glykogen erkennen. Dieser Befund ist bemerkenswert im Vergleich zu den Kontrolltieren. Keine entzündliche Reaktion im Bereich der Periportalfelder. Die zentralnahen Leberzellen speicherten mäßig viel feintropfiges Fett.

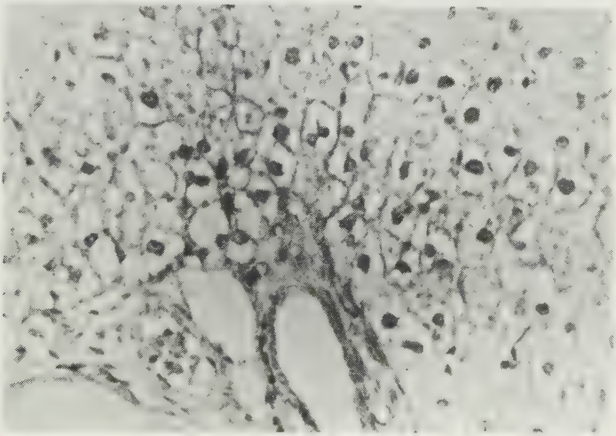


Abb. 25: Leberschnitt einer 200 g schweren weiblichen Ratte 40 Stunden nach vierstündiger Penthranenarkose (50 % O_2, 50 % N_2O, 0,4 Vol% Penthrane). Periportalfelder (P), große Leberzellen mit Betonung der Leberzellmembran, zum Teil transparentes Zytoplasma.
HE, 250x

D. Unter hypoxischer Penthranenarkose

Die Leberschnitte dieser Tiergruppe unterschieden sich nicht von denen der Penthranegruppe.

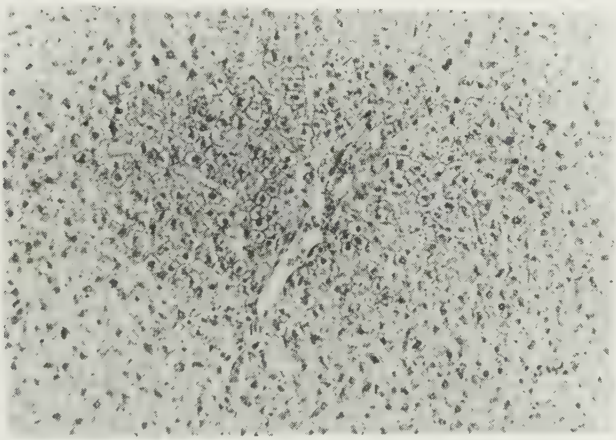


Abb. 26: Leberschnitt einer 200 g schweren weiblichen Ratte 40 Stunden nach vierstündiger hypoxischer Penthrane-narkose (12 % O_2, 88 % N_2O, 0,4 Vol% Penthrane). Periportalfeld (P), Zentralregion (Z), große helle Leberzellen, Betonung der Leberzellgrenzen, große mittelständige Leberzellkerne.
HE, 100x.

Wiederum waren die hellen Leberzellen mit transparentem Zytoplasma erkennbar, Betonung der Leberzellgrenzen mit mittelständigen Leberzellkernen, hier und da 2 bis 3 große Nukleolen, stellenweise lag das Zytoplasma kappenartig auf den Leberzellkernen. Andere Leberschnitte wiesen dagegen eine deutliche Azidophilie

des Zytoplasmas auf mit teilweise schmalen Leberzellbalken besonders zentralnahe, ohne Leberzelluntergänge, ohne entzündliche Infiltration in den Periportalfeldern. In den Leberzellen wurde ausreichend PAS-positives Material gespeichert, jedoch nicht in übermäßiger Menge, geringe Fettspeicherung in den Epithelien.

E. Unter hyperkapnischen Bedingungen

Alle Leberschnitte dieser Tiere zeigten ein unauffälliges Periportalfeld und eine unauffällige Zentralregion. Das Zytoplasma war teilweise azidophil angefärbt, hier und da erschienen Vakuolen in dem Zytoplasma. Andererseits waren Leberzellen mit pflanzenzellartigem Zytoplasma erkennbar, mit relativ großen mittelständigen Kernen. Teilweise ausgeprägtes basophiles, scholliges Zytoplasma in unmittelbarer Nähe der Kerne. Die PAS-Reaktion war nur in einigen Leberzellen positiv, dagegen wurde reichlich mittelgrobtropfiges Fett in den Leberepithelien gespeichert.

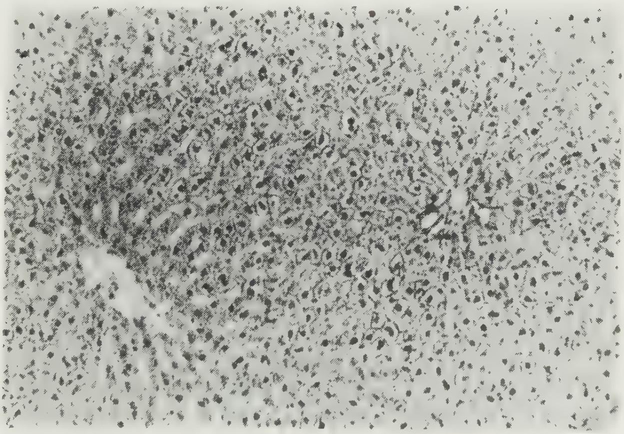


Abb. 27: Leberschnitt einer 200 g schweren weiblichen Ratte 40 Stunden nach vierstündiger Hyperkapnie (45 % O_2, 45 % N_2O, 10 % CO_2). Periportalfeld (P), Zentralregion (Z), große Leberzellen mit hellem Zytoplasma, große mittelständige Leberzellkerne, besonders zentralnahe basophiles Zytoplasma der Leberzellen. HE, 100x.

F. Unter hyperkapnischer Penthranenarkose

Wiederum normalbreite Periportalfelder, ohne entzündliche Infiltrationen, unauffällige zentralnahe Leberzellen. Neben den schon beschriebenen großen pflanzenzellartigen Leberzellen mit mittelständigen Kernen kamen auch solche mit scholligem, deutlich basophilem perinukleärem Zytoplasma vor, hier und da auch azidophile Leberzellen, ohne Hinweis auf Leberzellnekrosen. Auch in dieser Gruppe schien der auffälligste Befund in den großen Leberzellen zu bestehen. Die PAS-Reaktion war positiv, jedoch nicht ausgeprägt; geringe Fettspeicherung in den zentralnahen Leberzellen.

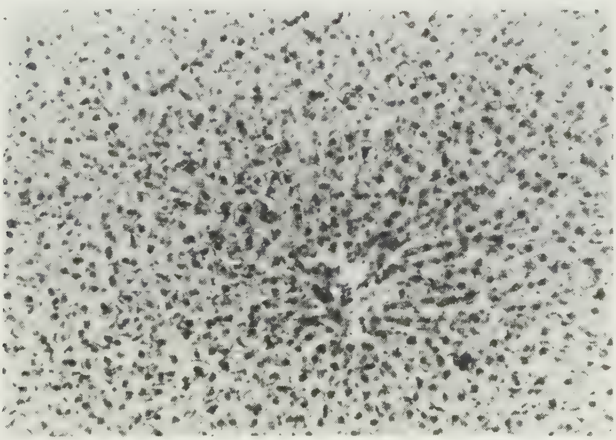


Abb. 28: Leberschnitt einer 200 g schweren weiblichen Ratte 40 Stunden nach vierstündiger hyperkapnischer Penthranenarkose (45 % O_2, 45 % N_2O, 10 % CO_2, 0,4 Vol% Penthrane). Große helle Leberzellen, die zentralnahe (Z) eine Basophilie erkennen lassen. HE, 100x.

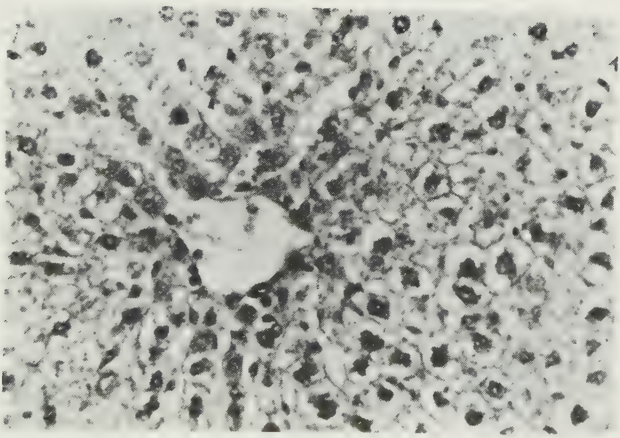


Abb. 29: Leberschnitt einer 200 g schweren weiblichen Ratte, 40 Stunden nach vierstündiger hyperkapnischer Penthranenarkose (45 % O_2, 45 % N_2O, 10 % CO_2, 0,4 Vol% Penthrane). Zentralnahe Region. Neben den peripheren hellen Leberzellen kommen zentralnahe Leberzellen mit basophilem Zytoplasma vor. HE, 250x.

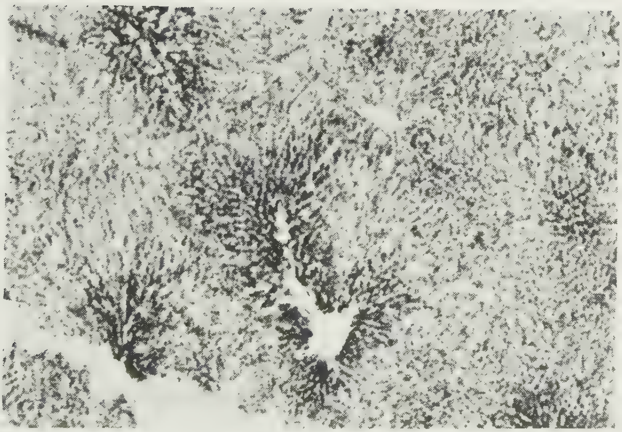


Abb. 30: Leberschnitt einer 200 g schweren weiblichen Ratte, 40 Stunden nach vierstündiger hyperkapnischer Penthranenarkose (45 % O_2, 45 % N_2O, 10 % CO_2, 0,4 Vol% Penthrane). Fettspeicherung in den zentralnahe (Z) gelegenen Leberzellen.
Scharlachrot, Lupe.

V. DISKUSSION

Unsere Fragestellung war, ob Methoxyfluran unter normoxischen, hypoxischen und hyperkapnischen Bedingungen im Tierexperiment lebertoxisch wirkt.
Zu diesem Zweck wendeten wir eine Methode an, die nach unserer Ansicht geeignet ist, Aufschluß über akute Leberparenchymschäden und Störungen der Leberfunktion zu geben.

Aus einer Reihe vorliegender klinischer Studien und tierexperimenteller Untersuchungen geht hervor, daß bekannte Lebertoxine akute Enzymaktivitätsveränderungen hervorrufen. Das Ausmaß dieser Veränderungen kann als Maß für die Toxizität dienen und korreliert mit der Dauer der Exposition (Lit. 7). Als Beispiele seien hier genannt: Die Tetrachlorkohlenstoffvergiftungen (Lit. 7, 25, 50), Schädigung durch Viren (Lit. 15) oder das Anlegen von Gefäßligaturen im Bereich der zuführenden oder abführenden Lebergefäße (Lit. 29).

Zur Prüfung der eingangs gestellten Frage nach der Lebertoxizität von Methoxyfluran erschien es uns diesen Literaturberichten zufolge ausreichend, ein breites Spektrum von Serumenzymaktivitäten zu bestimmen. Gegenüber der Kontrollgruppe abweichende Werte durften somit direkt auf die Wirkung von Penthrane zu beziehen sein. Von der Messung der Enzymaktivitäten im Leberhomogenat und der Beurteilung histologischer Leberschnitte erwarteten wir zusätzlich aussagekräftige Befunde.

Als Indikatoren für akute Leberparenchymschäden gelten die Transaminasen (GOT und GPT) und die LDH zusammen mit der GLDH. Dabei sind GPT und GLDH nahezu leberspezifisch, während GOT- und LDH-Aktivitätserhöhungen auch bei einer Schädigung von Herz, Skelettmuskulatur und Erythrozyten gefunden werden. Die Verteilung

der Enzyme in den Zellen ist unterschiedlich. Die GOT ist sowohl im Zytosol als auch in den Mitochondrien lokalisiert. Die GPT und die LDH befinden sich im Zytosol. Die GLDH ist ein rein mitochondriales Enzym (Lit. 1, 5, 9, 18, 42). Wird die muskelspezifische CPK mitbestimmt, so kann bei vorliegendem Aktivitätsanstieg von GOT und LDH eine Muskelschädigung als Ursache ausgeschlossen werden.

Die Enzyme aPh und LAP zeigen eine extra- und intrahepatische Cholestase an. Die Bestimmung ihrer Aktivitäten erlaubt eine Abgrenzung gegenüber Leberparenchymschäden.

Ein weiteres Enzym, das Leberschäden anzeigt, ist die ChE (Lit. 21, 51). Da die Synthese der ChE ausschließlich in der Leber stattfindet, weist ein Abfall der Enzymaktivität im Serum auf eine ausgedehnte Schädigung des Parenchyms oder eine Verringerung der Gesamtzellmasse hin.

Die LDH ist nicht leberspezifisch. Ergibt die Bestimmung der α -HBDH (=LDH-1-Isoenzym), die vorwiegend in Herz, Niere und Erythrozyten lokalisiert ist, erhöhte Werte, so kann daraus geschlossen werden, daß eine Erhöhung der LDH-Aktivität nicht auf Funktionsstörungen der Leber zurückzuführen ist.

Die Bestimmungen der DNS, RNS bzw. RNS-Syntheserate in den Leberzellen ist wohl die feinste und sicherste Methode, um Störungen der Leberfunktion zu erfassen. PAULINI et al. benutzten diese Methode in Kombination mit licht- und elektronenmikroskopischen Untersuchungen bei ihren Tierexperimenten über Leberparenchymveränderungen nach Halothan- bzw. Penthranenarkosen (Lit. 32, 33).

Für unsere Fragestellung erschien uns jedoch die von uns verwendete Methodik ausreichend, besonders im Hinblick auf die klinische Rele-

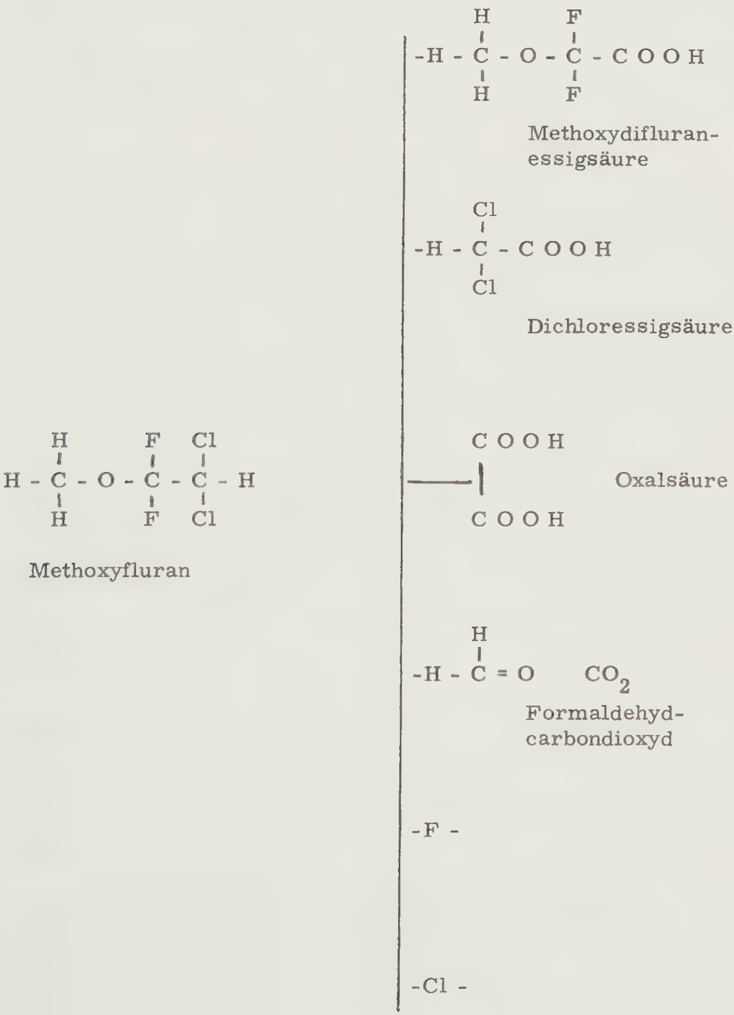
vanz unserer Untersuchungen.

Im Gegensatz zu Halothan sind für Methoxyfluran zur Frage der toxischen Wirkung auf die parenchymatösen Organe die Literaturangaben spärlich. Damit mag zusammenhängen, daß die Einführung des Methoxyfluran in die klinische Praxis äußerst schleppend vonstatten ging, weil das Halothan schon einen festen Platz unter den Inhalationsnarkotika eingenommen hatte. Erst in letzter Zeit ist auch das Penthrane wieder interessant geworden, seit man weiß, daß im Rahmen der Coronarchirurgie offensichtlich nicht wegdiskutierbare Vorteile gegenüber dem Halothan bestehen.

Immerhin tauchten die ersten Berichte über Parenchymveränderungen durch Methoxyfluran 4 Jahre nach seiner klinischen Einführung auf. So berichteten 1964 PADDOCK et al. (Lit. 30) über Nierenschäden nach Penthranenarkose. CRANDELL et al. (Lit. 11) beschrieben eine Polyurie mit steigender Serumosmolarität bei fixierter Harnosmolarität beim Menschen. ADH-gabe und Flüssigkeitsentzug bewirkten keine Harnkonzentration. Dieses Krankheitsbild wurde daraufhin verschiedentlich bestätigt (Lit. 26, 5, 34, 13, 23, 14, 31), letzthin besonders von MAZZE et al. (Lit. 27).

Folgender Mechanismus scheint für die Methoxyflurannephropathie verantwortlich zu sein (Lit. 19): Methoxyfluran wird bis zu 50 % im Organismus abgebaut.

Stoffwechselprodukte des Methoxyfluran:



Die durch die Biotransformation freigesetzte Flúoridkonzentration ist abhängig von der verabreichten Dosis und Stoffwechselrate des Methoxyflurans. Erreicht sie toxische Spiegel, können dadurch Nierenschäden verursacht werden. Man nimmt an, daß es sich dabei um eine Störung des ADH-Effekts auf den distalen Tubulus handelt (Lit. 8). Dies entspricht den schon 1931 veröffentlichten Untersuchungen von GOLDENBERG (Lit. 16) über einen Diabetes insipidus nach Natriumfluorid, das damals zur Basedow-Therapie benutzt wurde.

Als Erklärung für Leberzellveränderungen beim Menschen werden zwei Mechanismen diskutiert. Analog dem Halothan soll Penthrane als Antigen sensibilisierend wirken, zum anderen wird eine direkte toxische Wirkung auf die Leberzelle angenommen. In der Literatur finden sich Angaben über massive Leberzellnekrosen nach einfacher oder mehrfacher Penthranenarkose (Lit. 20, 46, 45). Andere Autoren berichteten über reversible Leberfunktionsstörungen, die sich in erster Linie durch Enzymveränderungen nachweisen ließen (Lit. 3, 6, 13). Nach ARTUSIO ist Penthrane nicht direkt lebertoxisch, bewirkt allerdings selten eine Überempfindlichkeitsreaktion, die sich als Irritation des Leberparenchyms oder entsprechend an der Niere als tubuläre Dysfunktion mit polyurischer Azotämie äußert (Lit. 3).

Nach der statistischen Auswertung unserer Enzymaktivitätsbestimmungen im Plasma ergaben sich keine hochsignifikanten Veränderungen. Dies galt für alle Versuchsgruppen gegenüber der Kontrollgruppe.

Lediglich die GPT war nach normaler Penthranenarkose leicht erhöht. Desgleichen ließ sich für die ChE bei den Hyperkapnietieren ein Abfall feststellen.

Im Homogenat erhielten wir ein ähnliches Bild.
Die GOT-, GPT-, LAP- und ChE-Werte lagen für die Penthrane-Hyperkapnie-Gruppe signifikant unter den Kontrollwerten. Die Abweichungen waren gering. Analog verhielten sich die GPT- und LAP-Werte für die Hypoxie- und die Penthrane-Hypoxie-Gruppe.

Diese Ergebnisse stimmen mit den Untersuchungen von CLAUBERG (Lit. 10) überein, der leichte Enzymveränderungen nach Penthranenarkose unter normoxischen bzw. hyperoxischen Bedingungen bei Ratten zeigen konnte. Nach vierstündiger Narkose mit 0,75 Vol% Penthrane fand CLAUBERG nur eine unwesentliche Erhöhung der Serumfermente.

Dieser Befund wird erhärtet durch die Tatsache, daß wir bei unseren Untersuchungen ein breiteres Spektrum an Enzymen untersuchten als CLAUBERG und außerdem die Enzymaktivitätsmessungen auch im Leberhomogenat vornahmen.

Weiterhin fand derselbe Autor bei achtstündiger Narkose mit 0,5 Vol% Penthrane einen geringen Anstieg der GOT und des Gesamtbilirubins.
Nach einer zwölfstündigen Narkose mit 0,3 Vol% Penthrane waren einzelne GOT-, GPT- und LDH-Werte deutlich erhöht. Gleichzeitig zeigte CLAUBERG, daß sich diese Veränderungen quantitativ und qualitativ nicht von denen nach Halothan, Äther oder Cyclopropan unterscheiden (Lit. 10, 17, 43).

PAULINI et al. veröffentlichten in jüngster Zeit Ergebnisse einer tierexperimentellen Untersuchung an weiblichen Ratten (Lit. 33).
Sie gaben an vier aufeinanderfolgenden Tagen über 1 Stunde 0,3 Vol% Penthrane in 1 l Sauerstoff und 2 l Lachgas. Sie fanden eine signifikante Abnahme von Leberfeucht- und -trockengewicht sowie eine signifikante Reduktion von RNS-und Proteinmenge in der Leber.

Eine Verminderung der DNS ließ sich dagegen nicht statistisch sichern. Lichtmikroskopisch wurde eine Verfettung der Leberzellen nachgewiesen, die zentral stärker ausgeprägt war als peripher. Elektronenmikroskopisch imponierte ebenfalls eine Leberzellverfettung. Eine vesikuläre Transformation des glatten endoplasmatischen Retikulums, wie es von Phenobarbital erzeugt wird, war nicht nachweisbar. Dagegen fand sich das rauhe endoplasmatische Retikulum dilatiert und die Ribosomen waren von den Membranen abgelöst. Die Mitochondrien waren geschwollen, die Matrix aufgehellt, die Cristäe rarifiziert und die elektronenmikroskopisch darstellbare Glykogenmenge schien geringgradig vermindert. Ursache hierfür soll eine Schädigung der Mitochondrien durch die Methoxyfluranmetaboliten (Oxalsäure, F) sein, die zu einem Verlust der Energiebildung mit anschließender Verfettung führt. Aus den Ergebnissen schlossen die Untersucher, daß Penthrane in isonarkotischen Konzentrationen wesentlich toxischer als Halothan wirkt, nachdem sie in einer vorhergehenden Arbeit (Lit. 32) zeigen konnten, daß Halothan eine nachweisbar lebertoxische Wirkung besitzt. Allerdings wurden die Versuche von PAULINI in erster Linie unter der Fragestellung vorgenommen, ob Methoxyfluran zu den sogenannten induzierenden Substanzen gehört.

Unsere lichtmikroskopischen Untersuchungen der Leberschnitte der einzelnen Versuchsgruppen ließen dagegen keine gravierenden Leberzellalterationen erkennen. Die von PAULINI et al. (Lit. 33) mitgeteilte Verfettung der Leberzellen konnte nur in der Hyperkapniegruppe, dagegen weniger bei denen mit oder ohne Hypoxie behandelten Tieren nachgewiesen werden. In der zuerst erwähnten Gruppe nahm auch die PAS-Reaktion der Leberzellen deutlich ab, war jedoch in den Leberzellen der Penthrane-Gruppen vorhanden.

Auffällig erschien uns allerdings die signifikante Zunahme des rela-

tiven Lebergewichts der mit Penthrane behandelten Ratten im Vergleich zu den Kontrolltieren. Die Leberschnitte der mit Penthrane narkotisierten Ratten wiesen auffällig große Leberzellen mit transparentem Zytoplasma auf, teilweise traten die Leberzellmembranen stark hervor. Glykogen wurde keinesfalls im Vergleich zu den Kontrolltieren vermehrt gespeichert, so daß wir die Zunahme des relativen Lebergewichts nicht auf eine vermehrte Glykogenspeicherung zurückführen möchten. Ähnliche Befunde fanden LEINWEBER et al. (Lit. 24) bei mit Halothan narkotisierten Ratten. Da eine ausgeprägte Verfettung mittels scharlachrotgefärbten Gefrierschnitten ausgeschlossen werden konnte, stellt sich die Frage nach einer Hypertrophie des glatten endoplasmatischen Retikulums.

RIETBROCK et al. (Lit. 39) konnten bei weiblichen Ratten nach Halothan-Gabe (2 Vol% Halothan, 98 % O_2, 1 Stunde pro Tag über 5 Tage) einen signifikanten Abfall der sogenannten "Hexobarbitalschlafzeit" und gleichzeitig eine Aktivitätssteigerung der NADPH-Cytochrom-C-Reduktase im Lebergewebe nachweisen.

Die Aktivität arzneimittelabbauender mikrosomaler Enzyme konnten wir bei den genannten Untersuchungen nicht bestimmen, auch mußten wir auf elektronenmikroskopische Untersuchungen des Lebergewebes verzichten.

Die von PAULINI et al. elektronenmikroskopisch aufgezeigten Befunde sprechen nicht für einen sogenannten Induktionseffekt der Leberzelle, wie man ihn etwa durch Phenobarbital hervorrufen kann (Lit. 37). Im Widerspruch zu unseren Ergebnissen steht der von PAULINI et al. mitgeteilte Abfall des Lebergewichts seiner Versuchstiere, die allerdings auch an Körpergewicht verloren.

In keiner der genannten Versuchsgruppen konnten wir histologisch eine Leberschädigung nachweisen, wobei eine geringgradige Verfettung nur in der Hyperkapniegruppe ausgeprägt war. Die morpholo-

gischen Ergebnisse stimmen somit weitgehend mit den klinisch-chemischen Parametern in Serum und Leberhomogenat überein. Obwohl die akute Sterblichkeit der Ratten, die mit Penthrane unter hypoxischen Bedingungen gehalten wurden, am größten war, konnten wir sowohl histologisch als auch laborchemisch bei den überlebenden Tieren keine - bei der von uns gewählten Versuchsbedingung - von der Norm signifikant abweichenden Veränderungen feststellen. Die Hyperkapnie schien auffallenderweise zu der ausgeprägtesten Leberverfettung zu führen, wobei allerdings die Leberfunktion weitgehend erhalten blieb.

Die von uns ermittelten Ergebnisse berechtigen nicht, auf eine direkte lebertoxische Wirkung von Penthrane zu schließen. Aus unseren Untersuchungen geht weiterhin hervor, daß eine zusätzliche Hypoxie oder Hyperkapnie keine nachweisbare Funktionsstörung der Leber bewirkt. Inwieweit diese tierexperimentellen Beobachtungen für den menschlichen Organismus Gültigkeit haben, bedarf weiterer Abklärung.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Die vorliegenden Untersuchungen hatten die Aufgabe, die Frage der Lebertoxizität von Penthrane unter normoxischen, hypoxischen und hyperkapnischen Bedingungen zu untersuchen.

Die 317 Versuchstiere, weibliche Ratten vom Stamm BR 46 Wistar II, teilten wir in folgende Gruppen auf:

1. Kontrollgruppe:
87 unbehandelte Tiere zur Kontrollbestimmung der Leberenzyme.

2. Hypoxiegruppe:
47 Tiere, die über 4 Stunden einem Gasgemisch von 12 % Sauerstoff und 88 % Lachgas ausgesetzt wurden:

3. Penthranegruppe:
54 Tiere, die über 4 Stunden einem Gasgemisch von 50 % Sauerstoff, 50 % Lachgas und 0,4 Vol% Penthrane ausgesetzt wurden.

4. Penthrane-Hypoxiegruppe:
69 Tiere, die über 4 Stunden einem Gasgemisch von 12 % Sauerstoff, 88 % Lachgas und 4 Vol% Penthrane ausgesetzt wurden.

5. Hyperkapniegruppe:
28 Tiere, die über 4 Stunden einem Gasgemisch von 45 % Sauerstoff, 45 % Lachgas und 10 % Kohlendioxyd ausgesetzt wurden.

6. Penthrane-Hyperkapniegruppe:
32 Tiere, die über 4 Stunden einem Gasgemisch von 45 % Sauerstoff, 45 % Lachgas, 10 % Kohlendioxyd und 0,4 Vol% Penthrane ausgesetzt wurden.

Um kranke Tiere auszuschließen, wurden Gesamteiweißbestimmungen im Serum vorgenommen. Um festzustellen, ob die Tiere genügend hydriert waren, wurden Hämoglobingehalt und Hämatokrit gemessen.

Während der Narkose wurden bei der Penthrane-Hypoxiegruppe und bei der Penthrane-Hyperkapniegruppe Blutgasanalysen durchgeführt nach der Methode von ASTRUP. Außerdem wurde in allen Gruppen unter der Narkose die Höhe des Blutzuckerspiegels gemessen.

Die Tiere wurden 40 Stunden nach der Narkose getötet. Um Aufschluß über eventuelle Leberschädigungen zu erhalten, wurden die Enzymaktivitäten der GOT, GPT, GLDH, CPK, LAP, aPh, ChE, LDH und α -HBDH im Plasma und bis auf die Enzymaktivitäten der GLDH und CPK ebenfalls im Leberhomogenat bestimmt.

Außerdem wurde das relative Lebergewicht gemessen und die Lebern wurden histologisch untersucht.

Zur statistischen Auswertung der Meßwerte bedienten wir uns der einfachen Varianzanalyse mit Paarvergleich nach SCHEFFE.

Dabei ergaben die Enzymaktivitätsmessungen im Plasma keine hochsignifikanten Veränderungen. Nach normaler Penthranenarkose war die GPT zwar signifikant, aber nur leicht erhöht. Bei der ChE beobachteten wir in der Hyperkapniegruppe einen geringen Abfall.

Die Enzymaktivitätsmessungen im Leberhomogenat ergaben ein ähnliches Bild. Die GPT- und LAP-Werte bei der Hypoxiegruppe und der Penthrane-Hypoxiegruppe lagen sogar signifikant unter den Kontrollwerten. Analog verhielten sich die GOT-, GPT-, LAP- und ChE-Werte für die Penthrane-Hyperkapniegruppe. Wir fanden nur geringe Abweichungen gegenüber den Kontrollwerten.

Die lichtmikroskopischen Untersuchungen der Leberschnitte der einzelnen Versuchsgruppen ließen keine gravierenden Leberzellveränderungen erkennen.

Eine Verfettung der Leberzellen konnte besonders in der Hyperkapniegruppe, dagegen weniger bei den Penthranetieren und den beiden Hypoxiegruppen nachgewiesen werden. In der Hyperkapniegruppe nahm auch die PAS-Reaktion der Leberzellen deutlich ab, während sie bei der Penthranegruppe vorhanden war.

Auffällig erschien uns die signifikante Zunahme des relativen Lebergewichts der mit Penthrane behandelten Ratten im Vergleich zu den Kontrolltieren.
Die Leberschnitte der Penthranetiere enthielten auffällig große Leberzellen mit transparentem Zytoplasma und teilweise stark hervortretenden Leberzellmembranen.
Im Vergleich zu den Kontrolltieren wurde nicht vermehrt Glykogen gespeichert. Außerdem konnte eine ausgeprägte Verfettung mittels scharlachrot gefärbten Gefrierschnitten ausgeschlossen werden, so daß die Zunahme des relativen Lebergewichts durch eine Hypertrophie des glatten endoplasmatischen Retikulums bedingt sein könnte.

In keiner der Versuchsgruppen ließ sich histologisch eine Leberschädigung nachweisen. Die morphologischen Ergebnisse stimmen somit weitgehend mit den klinisch-chemischen Befunden in Serum und Leberhomogenat überein.

Trotz der hohen Mortalitätsrate in der Penthrane-Hypoxiegruppe konnten wir sowohl histologisch als auch laborchemisch keine von der Norm signifikant abweichenden Veränderungen feststellen. Die Ursache für die hohe Sterblichkeit war in einer akuten Rechtsherzinsuffizienz durch Hypoxie zu suchen. Die Hyperkapnie führte

zu einer auffälligen Leberzellverfettung bei allerdings weitgehend erhaltener Leberfunktion.

Die von uns ermittelten Ergebnisse berechtigen nicht, auf eine direkte lebertoxische Wirkung von Penthrane zu schließen. Diese Feststellung gilt auch für die Kombination Penthrane und Hypoxie bzw. Hyperkapnie.

VII. LITERATURVERZEICHNIS

1 ALLARD, C., G. de LAMIRANDE, A. CANTERO
Behavior of enzymes in liver of starved rats.
Exp. Cell Res. 13, 69-77 (1957)

2 ARTUSIO, J.F., A. Van POZNAK, R. HUNT, R.N. TIERS, M. ALEXANDER
A clinical evaluation of methoxyflurane in man.
Anesthesiology 21, 512-517 (1960)

3 ARTUSIO, J.F.
Gedanken über Methoxyfluran.
Anaesthesist 18, 415-416 (1969)

4 AUSTIN, W.H., P.J. VILLANDRY
Methoxyflurane and renal function.
Anesthesiology 28, 637 (1967)

5 BEAUFAY, H., D.S. BENDALL, P. BAUDHUIN, C. de DUVE
Tissue fractionation studies. Intracellular distribution of some dehydogenase, alkine deoxyribonuclease and iron in rat liver tissue.
Biochem. J. 73, 623-628 (1959)

6 BRENNER, A.I., M.M. KAPLAN
Recurrent hepatitis due to methoxyflurane anesthesia.
N. Engl. J. Med. 284, 961-962 (1971)

7 BRUNS, F.H., J. NEUHAUS
Die Aktivität einiger Serum- und Leberenzyme beim experimentellen Tetrachlorkohlenstoffschaden der Maus.
Biochem. Z. 326, 242-251 (1955)

8 CASCORBI, H.F., J.S. GRAVENSTEIN
Parenchymschäden nach Halothan und Methoxyfluran.
Anaesthesist 20, 413-416 (1971)

9 CHRISTIE, G.S., J.D. JUDAH
Intracellular distribution of enzymes.
Proc. roy. soc. 141, 420-433 (1953)

10 CLAUBERG, G.
Untersuchungen über den Einfluß von Inhalations-Narkose und Operation auf die Leberfunktion unter besonderer Berücksichtigung des Halothans. Teil I und II.
Anaesthesist 19, 317-328 (1970)

11 CRANDELL, W.B., S.G. PAPPAS, A. MacDONALD
Nephrotoxicity associated with methoxyflurane anesthesia.
Anesthesiology 27, 591-607 (1966)

12 CÜPPERS, M.
Tierexperimentelle Untersuchungen zur Frage der Leberschädigung nach Halothan-Narkose und Hypoxie.

13 ELKINGTON, S.G., J.A. GOIFFINET, H.O. CONN
Renal and hepatic injury associated with methoxyflurane anesthesia.
Ann. intern. Med. 69, 1229-1236 (1968)

14 FRASCINO, J.A., R. VANEMEE, P.P. ROSEN
Renal oxalosis and azotemia after methoxyflurane anesthesia.
New Engl. J. Med. 283, 676-679 (1970)

15 FRIEND, Ch., F. WROBLEWSKI, J.S. DUE, la
Glutamic-oxaloacetic transaminase activity of serum in mice with viral hepatitis.
J. Exp. Med. 102, 699-704 (1955)

16 GOLDENBERG, L.
Tratamiento de la enfermadad de Basedow: y del hiper - tiroidismo por fluor.
Rev. Soc. Int. Soc. Fisiol. 6, 217-299 (1931)

17 GREEN, K.G.
Halothane and hepatic necrosis.
Anesthesiology 2, 595-596 (1963)

18 HOGEBOOM, G.H., W.C. SCHNEIDER
Intracellular distribution of enzymes. XI. Glutamic dehydrogenase.
J. biol. Chem. 204, 233-238 (1953)

19 HOLADAY, D.A., S. RUDOFSKY; P.S. TREUHAFT
The metabolic degradation of methoxyflurane in man.
Anesthesiology 33, 579-593 (1970)

20 KATZ, S.
Hepatic coma associated with methoxyflurane anesthesia, report of a case.
Amer. J. Dig. Dis. 15, 733-739 (1970)

21 KREUTZ, F.H.
Klinisch-chemische Untersuchungen bei Leberkrankheiten.
Internist 7, 13-21 (1966)

22 KUSCHINSKY, G., H. LÜLLMANN
Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie. 5. Aufl.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1972)

23 LEBOWITZ, M.H.
Nephrogenic diabetes insipidus following methoxyflurane anesthesia: A report of two cases.
Anesth. and Analg. 48, 233-236 (1969)

24 LEINWEBER, B., M. CÜPPERS, H. L'ALLEMAND
Morphologische Befunde der Leber nach Halothan-Narkose und Hypoxie bei Ratten.
Acta Hepato-Gastroenterologica (im Druck)

25 LETTOW, E.
Fermentdiagnostik des Tetrachlorkohlenstoffschadens der Leber beim Hund.
Berl. Münchner tierärztl. Wschr. 73, 25-27 (1960)

26 MacDONALD, A.
Nephropathy associated with methoxyflurane anesthesia.
J. Amer. med. Ass. 205, 798-799 (1968)

27 MAZZE, R.I., G.L. SHUE, S.H. JACKSON
Renal dysfunction associated with methoxyflurane anesthesia: A randomized prospective clinical study.
J. Amer. med. Ass. 216, 278-288 (1971)

28 MERCK, E.
Klinisches Labor.
11. Auflage der Medizinisch-chemischen Untersuchungsmethoden.
E. Merck, Darmstadt (1970)

29 NYDICK, J., F. WROBLEWSKI, J.S. DUE, la
Evidence for increased serum glutamic-oxalacetic transaminase (SGOT) activity following graded myocardial infarcts in dogs.
Circulation 12, 161-168 (1955)

30 PADDOCK, R.B., J.W. PARKER, N.P. GUADAGNI
The effects of methoxyflurane on renal function.
Anesthesiology 25, 707-708 (1964)

31 PANNER, B.J., R.B. FREEMAN, L.A. ROTH-MOYO, W. MARKOVICH, Jr.
Toxicity following methoxyflurane anesthesia. I. Clinical and pathological observations in two fatal cases.
J.Amer.med.Ass. 214, 86-90 (1970)

32 PAULINI, K., I.G. GOSTOMZYK, G. BENEKE, F.W. AHNEFELD
Gaschromatographische, biochemische und elektronenmikroskopische Untersuchungen an Ratten nach mehrmaligen Einzel- und Kombinationsgaben von Phenobarbital und Halothane.
Anaesthesist 21, 350-357 (1972)

33 PAULINI, K., J.G. GOSTOMZYK, G. BENEKE, F.W. AHNEFELD
Untersuchungen an Ratten nach mehrmaliger Einzel- und Kombinationsgabe von Phenobarbital und Methoxyfluran (Penthrane) - gaschromatographische, biochemische und elektronenmikroskopische Untersuchungen.
Anaesthesist 22, 55-61 (1973)

34 PEZZI, P.J., A.S. FROBESE, S.R. GREENBERG
Methoxyflurane and renal toxicity.
Lancet 290, 823 (1966)

35 PFLÜGER, H.
Kurzlehrbuch der modernen Anaesthesie.
Friedrich-Karl Schattauer, Stuttgart (1962)

36 REICHMANN, J., Ch. SCHMIDT, B. WOHLGEMUTH
Zur Frage der Leberschädigung nach Halothan-Narkosen.
Bruns' Beitr.klin.Chir. 212, 91-110 (1966)

37 REMMER, H., H. J. MERKER
Enzyminduktion und Vermehrung von endoplasmatischem Retikulum in der Leberzelle während Behandlung mit Phenobarbital.
Klin. Wschr. 41, 276 (1963)

38 RICHTERICH, R.
Klinische Chemie. Theorie und Praxis.
2. erw. Auflage.
Akademische Verlagsgesellschaft Frankfurt a. M. (1968)

39 RIETBROCK, I., G. LAZARUS, A. OTTERBEIN
Effect of Halothane on the hepatic drug metabolizing system.
Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmak. 273, 422 (1972)

40 SACHS, L.
Statistische Auswertungsmethoden.
2. Auflage.
Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York. S. Karges 196

41 SCHMIDT, E., F.W. SCHMIDT
Enzymmuster im Serum in in menschlichen Geweben.
1. Europ. Symp. Med. Enzymologie, Milano 1960.
Verk. S 100. Basel und New York. S. Karges 1962.

42 SCHMIDT, E., F.W. SCHMIDT
Enzymmuster menschlicher Gewebe als Grundlage diagnostischer Verwertung.
Regensburger Jahrbuch f. ärztl. Fortbildung 12, 207-216 (1964)

43 SCHOLLER, K. L., H. E. KÖHNLEIN, R. CARSJENS
Über den Einfluß verschiedener Narkosemittel auf die Enzymaktivitäten des menschlichen Serums.
Anaesthesist 14, 293-296 (1965)

44 SOLBACH, H.-G., A. ENGELHARDT, R. MERTEN
Unterschiede der Enzymaktivitäten in Serum und Plasma und ihre Bedeutung für die klinische Enzymdiagnostik.
Klin. Wschr. 40, 1136-1139 (1962)

45 SOSSEY, W.K., J.F. BARLOW
Thirty-one year old female with sudden onset of jaundice after surgery.
S.D. J. Med. 23, 23-28 (1970)

46 STEFANINI, M., A. HERLAND, E.P. KOSYAK
Fatal massive necrosis of the liver after repeated exposure to methoxyflurane.
Anesthesiology 32, 374-378 (1970)

47 SZASZ, G., P. ROSETHAL, W. FRITZSCHE
Die γ-Glutamyl-Transpeptidase-Aktivität im Serum bei hepatobiliären Erkrankungen.
Dtsch. Med. Wschr. 94, 1911-1917 (1969)

48 SZASZ, G.
γ-Glutamyl-Transpeptidase.
in H.U. Bergmeyer: Methoden der enzymatischen Analyse.
Verlag Chemie, Weinheim/Bergstr. Bd. I, 733-738 (1970)

49 SZASZ, G.
Die Qualitätskontrolle der Messung von Enzymaktivitäten.
Krankenhausarzt 9, 449-454 (1971)

50 VLEET, van, J.F., J.O. ALBERTS
Evaluation of liver function tests and liver biopsy in experimental carbon tetrachloride intoxikation and extrahepatic bile duct obstruction in the dog.
Am. J. Vet. Res. 29, 2119-2131 (1968)

51 WEBER, H., T. WEGMANN
Atlas der klinischen Enzymologie.
Georg Thieme, Stuttgart (1968).

52 WINER, B.J.
Statistical principles in experimental design.
McGraw-Hill, New York (1962)

53 ZINDLER, M.
Prophylaxe und Therapie der akuten Ateminsuffizienz.
Arch. klin. Chir. 304, 188-204 (1963)

L E B E N S L A U F

Am 11. Dezember 1948 wurde ich als Sohn des Postbeamten Georg Hofmann und dessen Ehefrau Marie, geb. Herzberger, in Bad Nauheim geboren.

Von 1955 bis 1959 besuchte ich die Volksschule in Dorheim und von 1959 bis 1967 die Augustinerschule in Friedberg. Am 28. 5. 1965 verstarb mein Vater nach längerer Krankheit. Die Reifeprüfung bestand ich im Juni 1967.

Im WS 1967/68 wurde ich an der Medizinischen Fakultät der Justus Liebig-Universität in Gießen immatrikuliert.
Ich bestand im März 1969 die naturwissenschaftliche Vorprüfung, im Juni 197o die ärztliche Vorprüfung und im Dezember 1973 die ärztliche Prüfung.